

Contribution à l'Etude Biologique du Paludisme

Travail du Service des Contagieux (Professeur R. SOHIER)
et du Laboratoire de Bactériologie (Docteur F. BÉNAZET)
de l'Hôpital Militaire Desgenettes

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale
et de Pharmacie de Marseille

Le 30 Avril 1954

PAR

Gilbert EYSSERIC

Né le 2 Mars 1920 à VAISON (Vaucluse)

Docteur d'Etat en Pharmacie

Licencié ès Sciences

Diplômé de Microbiologie, de Sérologie,
d'Hématologie,

de l'Institut de Médecine et de Pharmacie Coloniales
et de l'Institut de Phytopharmacie de Marseille

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examineurs de la Thèse	{	MM. J. OLMER	}
		— DERRIEN	
		— DUMAZERT	
		— RANQUE	

IMPRIMERIE DES BEAUX-ARTS
CAMILLE ANNEQUIN, 19, RUE ROUX-SOIGNAT, LYON

1954

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOLOGIQUE
DU PALUDISME

PERSONNEL ENSEIGNANT

DE LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen Honoraire.....	MM. L. IMBERT
Doyen	G. MORIN
Assesseur	J. DELPHAUT

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUBARET, AUDIBERT, BELTRAMI, BREMOND, GABRIEL, GAUJOUX, HECKENROTH,
JOYEUX, OLMER, RIMATTEI, ROCHE, ROGER

Chargé de Cours Honoraire : M. TIAN

Secrétaire : J. COMTE - Bibliothécaire : Mlle PERRIN

PROFESSEURS

Anatomie	MM. GRISOLI
Anatomie Pathologique.....	GASTAUT
Bactériologie et Pathologie Générale.....	BRAHIC
Botanique et Cryptogamie.....	PELLISSIER
Chimie Analytique et Hydrologie.....	ARNOUX
Chimie Médicale.....	DERRIEN
Chimie	DUMAZERT
Clinique Chirurgicale	FIOLE
Clinique Chirurgicale	MOIROUD
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédique.....	SALMON
Clinique Chirurgicale Thérapeutique et Chirurgie Expérimentale.....	DE VERNEJOUL
Clinique Dermato-Syphiligraphique	CHARPY
Clinique Exotique	BLANC
Clinique des Maladies du Système Nerveux.....	POURSINES
Clinique Médicale	MATTEI
Clinique Médicale	POINSO
Clinique Médicale Thérapeutique.....	J. OLMER
Clinique des Maladies des Voies Digestives et de la Nutrition.....	MONGES
Clinique Médicale Infantile.....	GIRAUD
Clinique Neuro-Chirurgicale	PAILLAS
Clinique Obstétricale et Gynécologique.....	CHOSSON
Clinique Ophtalmologique	JAYLE
Clinique Urologique	CHAUVIN
Histologie	N...
Hygiène et Médecine Préventive.....	SAUTET
Matière Médicale.....	BALANSARD
Médecine Légale et Médecine du Travail.....	MOSINGER
Parasitologie	N...
Pathologie Chirurgicale.....	CARCASSONNE
Pharmacologie	F. MERCIER
Pharmacie Chimique et Toxicologie.....	VIGNOLI
Pharmacie Galénique.....	DELPHAUT
Physiologie	MORIN
Physique Médicale	DOUBOULOZ
Thérapeutique	PIERI

AGRÉGÉS LIBRES

MM. AUDIER	MM. FIGARELLA
BERTHIER	IMBERT
DOR	RECORDIER

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. APPAIX	MM. MARONNEAUD
BERNARD	MONGES Henri
CREMIEUX	OLLIVIER
GRANJON	OURGAUD
HENRY	PAOLI
JOUVE	RAYBAUD
LAMY	SERMET
LAVAL	VAGUE
LENA	

MAITRES DE CONFÉRENCE AGRÉGÉS

MM. BOURRET	MM. MOURGUE
DONNET	PICARD
GREBUS	RANQUE
MERCIER Jacques	ROUX

CHARGÉS DES FONCTIONS DE MAITRES DE CONFÉRENCE

Anatomie Pathologique.....	MM. PAYAN
Botanique et Cryptogamie.....	BERNARD
Histologie	STAHL

CHARGÉ DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ

Clinique Urologique.....	M. CHAUVIN
--------------------------	------------

Contribution à l'Etude Biologique du Paludisme

Travail du Service des Contagieux (Professeur R. SOHIER)
et du Laboratoire de Bactériologie (Docteur F. BÉNAZET)
de l'Hôpital Militaire Desgenettes

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale
et de Pharmacie de Marseille

Le 30 Avril 1954

PAR

Gilbert EYSSERIC

Né le 2 Mars 1920 à VAISON (Vaucluse)

Docteur d'Etat en Pharmacie

Licencié ès Sciences

Diplômé de Microbiologie, de Sérologie,
d'Hématologie,

de l'Institut de Médecine et de Pharmacie Coloniales
et de l'Institut de Phytopharmacie de Marseille

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examineurs de la Thèse	{	MM. J. OLMER	}
		— DERRIEN	
		— DUMAZERT	
		— RANQUE	



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA FEMME

A MES FRÈRES JACQUES ET JEAN

AUX MIENS

A MES AMIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AVANT-PROPOS

Au terme de nos tardives études médicales, il nous est agréable de saluer nos Maîtres et nos Amis.

La haute culture du M. le Professeur J. Olmer et son inépuisable bienveillance ont guidé nos pas dans les sentiers pour nous difficiles de la Médecine. L'enseignement remarquablement brillant et organisé que l'on recueille dans son service doivent permettre, même à un biologiste devenu médecin, de conserver une empreinte clinique précieuse.

M. le Professeur R. Sohier nous a proposé le sujet de ce travail et nous a fourni un matériel d'observations d'une rare richesse. Nous avons été particulièrement sensible à l'honneur d'approcher un savant dont l'activité biologique a connu sous tous ses aspects une si grande notoriété. Nous devons aussi remercier son élève et collaborateur, le Docteur F. Bénazet, Chef de laboratoire à l'Hôpital Militaire Desgenettes, et Chargé d'agrégation à la Faculté. Tout le monde peut apprécier les solides qualités qui le promettent au plus brillant avenir. Nous avons été heureux de retrouver en lui l'excellent camarade que nous avons connu à l'Ecole du Service de Santé Militaire, avec sa gentillesse habituelle et son sens de l'amitié dont nous craignons d'avoir abusé.

Pour la deuxième fois, et comme pour notre première thèse, nous avons sollicité MM. les Professeurs Y. Derrien et C. Dumazert de juger notre travail. Nous sommes fier d'avoir débuté sous leur égide, en 1940, dans le laboratoire. Nous leur devons notre initiation au travail passionnant de la Biochimie. Nous sommes très reconnaissant à M. Derrien d'avoir consenti à faire pratiquer, à l'Institut Municipal de Biologie qu'il dirige, les examens électrophorétiques qui figurent dans notre travail. Nous exprimons notre vive gratitude à M. J. Reynaud et à son aide technique, Mlle P. Beaumont qui ont bien voulu les effectuer.

Nous remercierons tout spécialement M. le Docteur X. Henry. Il a mis à notre disposition un nombre considérable de publications qui témoignent non seulement de son extrême obligeance mais

des résultats remarquables qu'un homme de qualité peut obtenir quand il a consacré sa vie à un sujet. Il nous a prodigué des conseils qui nous ont été très utiles dans l'élaboration de notre thèse.

Les noms de M. le Professeur R. Fauvert, de MM. les Docteurs J. Schneider et L. Hartmann reviennent souvent dans cette étude. C'est dire l'importance que nous avons attachée à leurs travaux sur l'hépatite palustre. Nous leur savons gré de nous avoir reçu avec une parfaite courtoisie et de nous avoir aimablement communiqué des documents dont nous nous sommes largement servi.

Les sentiments de respectueuse admiration qui nous animent à l'égard de M. le Docteur A. Ranque, la vive amitié qui nous lie au Docteur M. Ranque, nous rendent encore plus agréable la présence dans notre jury de M. le Professeur J. Ranque, jeune Maître dont chacun s'accorde à louer la science et la modestie.

Que les médecins et chirurgiens de la ville d'Arles qui nous ont encouragé dans l'entreprise ou dans la poursuite de nos études médicales, trouvent ici le témoignage de notre reconnaissance. Nous avons retiré de nos rapports professionnels avec eux le plus grand profit clinique. En particulier, le contact des praticiens de l'Hôpital nous a fait regretter de n'avoir pu suivre leur visite avec encore plus d'assiduité. Nous espérons d'ailleurs dans l'avenir combler ces inévitables lacunes.

A nos collaborateurs de la rue du Docteur-Fanton, dont le dévouement et la compétence nous ont laissé la liberté d'esprit nécessaire à l'accomplissement de nos études médicales et à la préparation de ce travail, nous renouvelons l'expression de notre confiance et de notre attachement.

Notre affectueuse pensée va à nos amis qu'il nous est difficile de tous nommer, les Docteurs Achard, Bayle, Fournier-Carrié, Gibert, Hédél, Vicario..., ainsi qu'à nos excellents condisciples de l'« Ecole Arlésienne », les Docteurs Billot, Gilles et Trouche (trinité qui nous fut si secourable au cours de nos études). Nous les remercierons tous, en terminant, de nous avoir permis de retirer autant de joie du culte de l'amitié.

A MON JURY DE THÈSE

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MARSEILLE

En respectueux hommage.

INTRODUCTION

Ce travail, effectué à l'Hôpital Militaire Desgenettes, réunit 401 observations dont 352 concernent des Européens rapatriés de zone d'endémie palustre.

OBJET DU TRAVAIL

Nous nous sommes efforcé de répondre aux questions suivantes :

Dans quelle mesure les diverses réactions sérologiques proposées pour le diagnostic du paludisme sont-elles utilisables ?

Possèdent-elles au même titre les deux qualités essentielles de sensibilité et de spécificité que requiert toute technique biologique sérieuse ?

Ces réactions se répartissent en deux groupes principaux : le premier ne peut prétendre à la spécificité. Il englobe les tests dits hépatiques * qu'il est préférable, avec Fauvert (56), de désigner par le terme moins restrictif de test de labilité plasmatique.

Les réactions du deuxième groupe visent spécialement le diagnostic de la malaria. Elles peuvent être classées en deux catégories : les réactions de Henry * et les réactions du type Chorine ou Le Bourdelles.

Les réactions palustres * méritent-elles d'être mises à part ? Leurs résultats sont-ils supérieurs à ceux que permettent d'obtenir des réactions de floculation, telles que celles de MacLagan, de Hanger, ou de Gros ?

Enfin, dans le groupe palustre, certaines doivent-elles prendre le pas sur les autres ? Peut-on accorder par exemple aux R.H. une supériorité réelle sur les réactions de Chorine ou de Le Bourdelles.

Sans préjuger leur valeur, nous nous autorisons à baptiser ces deux dernières du terme de réactions secondaires * : ne serait-ce que pour des raisons chronologiques, cette expression est légitime.

* Lire désormais :

R.P. pour réactions palustres.

R.H. pour réactions de Henry.

T.H. pour tests de labilité plasmatique.

R.S. pour réactions secondaires.

Sur le plan théorique, quels sont les fondements immunologiques qui soutiennent ces diverses réactions ? Les R.H. en particulier entrent-elles dans le cadre des réactions antigènes-anticorps ? Autrement dit, le terme d'antigène, si utilisé en sérologie courante, est-il valable immunologiquement pour les séroréactions de Henry ?

RAPPEL PHYSIO-CLINIQUE

Nous ne prétendons pas répondre complètement à ces questions ni épuiser ces sujets, dont certains seront seulement effleurés.

Cette étude a, en effet, une orientation clinique, et ceci nous amène à la question suivante : les réactions que nous venons de mentionner, nous permettent-elles d'apprécier l'évolutivité actuelle d'un paludisme de reviviscence chez des Européens rapatriés de zone d'endémie ?

Peut-on, là encore, vérifier la loi de Rieux (149) sur l'extinction de la malaria dans les deux ans qui suivent le rapatriement ?

Cliniquement, on peut distinguer, d'après Blanc et Siguier (18) :

— Le paludisme d'apport anophélien, forme de début, où les signes spécifiques sont peu nets : température continue, asthénie, etc..., en général peu grave.

— Le paludisme plus sévère avec les fièvres rémittentes, constitué par l'apport anophélien exogène continu et la multiplication endogène du parasite.

— Enfin, le paludisme viscéral évolutif, anciennement et fausement appelé paludisme chronique, dont la durée est surtout liée à l'intrication de paludismes aigus d'inoculations successives, évoluant sur un organisme de plus en plus méiopragié. L'anémie, la splénomégalie au moins nette, le subictère, l'hypoprotéinémie, caractérisent cette forme clinique.

La physio-pathologie du paludisme, d'après les mêmes auteurs, est commandée par la vie intraglobulaire du parasite, et l'intensité du parasitisme par le nombre des inoculations, leur répétition,

l'espèce d'hématozoaire. La vie de ce dernier — et cette règle souffre peu d'exceptions — ne dépasse pas deux ans.

L'atteinte du système réticulo-endothélial * domine l'anatomo-pathologie ; le paludisme aigu se caractérise par de la congestion et de l'hyperplasie ; le paludisme entretenu par de la phagocytose pigmentaire et l'hyperplasie. Cette réaction du S.R.E. explique la spléno et l'hépatomégalie.

Pour Sicault et Messerlin (163), l'évolution de la réticulo-endothéliose palustre a lieu en plusieurs phases : la première, d'hyperfonctionnement, réaction à l'envahissement parasitaire, qui a pour conséquence une hyperplasie et une activité phagocytaire et pexique remarquables et qui peut aboutir au blocage aigu du S.R.E. ; une deuxième phase de dysfonctionnement, corollaire de multiples réinfections, phase au cours de laquelle un véritable cercle vicieux s'installe ; le dérèglement du S.R.E. amène une érythrophagie, source d'une anémie qui entraîne à son tour la production d'hématies immatures de moindre résistance, hématies qui seront donc détruites, etc... Cette notion d'hypersplénisme hémolytique est maintenant admise par la plupart des auteurs (Aubry, Portier et Sénevet, 7). Le troisième stade correspond à la déchéance fonctionnelle du S.R.E. ; la surcharge réticulaire provoquée par un paludisme évoluant depuis plusieurs années, entraîne un blocage lent et progressif du S.R.E., à l'origine de la déchéance des parenchymes nobles, tels que celui du foie. Ainsi se constitue le parenchyme viscéral évolutif, dit chronique.

De ce bref rappel clinique, retenons et précisons pour notre travail, les quelques points suivants :

1° L'hématozoaire vit rarement au delà de deux ans ; donc, sans inoculation nouvelle, la parasitose s'éteint.

Les manifestations cliniques vraies de paludisme, chez les malades rapatriés et bien traités, ne durent qu'une année environ (Le Bourdelles, 104).

2° La physio-pathologie et l'anatomo-pathologie du paludisme sont dominées par l'atteinte du S.R.E., dont la rate et le foie sont les organes les plus représentatifs.

3° Le paludisme viscéral évolutif, ou « paludisme chronique », provient d'une intrication de malaria d'inoculations successives

* Lire désormais S.R.E. pour système réticulo-endothélial.

évoluant sur un organisme sensibilisé. Mais il faut ajouter aux causes de cette méiopragie l'influence de beaucoup d'autres facteurs : le climat, l'éthylisme surtout, au point que Henry (81) a pu fort justement parler des complexes malarie d'éthyle, malarie de vérole... On peut concevoir que l'influence histologique de ces éléments ne soit pas négligeable, et que sa traduction humorale ne soit pas identique à celle que présente le paludisme pur. Or, les rapatriés de zone d'endémie dont nous nous sommes occupés sont quelquefois de vieux coloniaux pour qui le climat et l'alcool ont pu constituer d'aussi redoutables ennemis que l'hématozoaire.

Nous ne nous étendrons pas davantage, renvoyant aux thèses récentes de Digoutte (46) et de Chastel (31), inspirées par Sohier et Bénazet, qui ont étudié ces problèmes d'une façon beaucoup plus précise.

PLAN DE TRAVAIL

Nous avons adopté le plan de travail suivant :

A) Etude bibliographique : l'exploration biologique dans le paludisme.

Dans un premier chapitre, nous avons passé en revue les travaux des différents auteurs. Nous disons tout de suite que nous n'avons pas eu pour objet d'établir une documentation bibliographique complète. Nous indiquerons, le cas échéant, les ouvrages comportant, sur certains points, une bibliographie plus détaillée.

I. Réactions sérologiques.

Nous étudierons d'abord les réactions sérologiques, palustres en premier lieu, puis les tests de labilité plasmatique. Parmi les techniques spécifiques, nous distinguons les réactions de floculation des réactions basées sur la recherche des précipitines, des parasitolysines et des hémolysines, et les réactions de déviation du complément.

a) Réactions palustres.

Dans ce premier groupe se détachent les réactions de Henry : la mélanofloculation avec toutes les modifications techniques que ce savant a apportées depuis sa découverte en 1927, les réactions à l'hémozoïne artificielle et à l'hémozoïne mélanique.

Nous exposons les résultats qu'ont obtenus les utilisateurs des R.H., et la signification qu'ils y attachent. Si les appréciations sur les services rendus concordent en général, nous verrons que la valeur théorique qu'ils accordent est très différente.

Les réactions fondées sur la détermination des parasitolytines, hémolytines, n'ont conservé qu'un intérêt historique à l'exception près de la réaction de Torrey et Kahn (173) d'ailleurs beaucoup plus récente (1949).

Enfin les réactions de déviation du complément ont été remises à l'ordre du jour par les travaux américains de Suttlif, Dulaney, Stratman-Thomas, Eaton, Rein et Bukantz.

Nous exposons pour chacun de ces groupes, les critiques dont ils ont fait l'objet.

b) Réactions de labilité plasmatique.

Certes, l'insuffisance hépatique dans le paludisme est une notion assez ancienne. C'est le mérite de Schneider, T. Bertrand-Fontaine, Fauvert et Hartmann, d'avoir posé clairement le problème et de l'avoir résolu d'une façon brillante et, semble-t-il, définitive.

2. Méthodes chimiques.

Cette agression dont la malaria se rend responsable vis-à-vis du foie, a inspiré d'autres méthodes d'exploration biologique : chimiques d'abord, portant sur la fonction glycogénique du foie ou sur la fonction protéopexique ; cette dernière a été riche d'enseignements, depuis la simple détermination du rapport sérine-globuline, jusqu'à la réalisation du diagramme électrophorétique.

Les propriétés enzymatiques du foie (synthèse et estérification du cholestérol), ont été exploitées par Schneider, Fauvert et Hartmann.

3. Modifications hématologiques.

Ces mêmes auteurs ont fait ressortir l'intérêt que présente la détermination hématologique de la proconvertine dont l'abaissement est plus précoce et plus sensible que celui de la prothrombine.

4. Modifications histologiques.

Enfin, dernier moyen d'exploration biologique, l'histologie connaît un regain de faveur avec la ponction-biopsie du foie, dont la

facile exécution permet non seulement de consolider précieusement le diagnostic, mais de suivre pas à pas, l'évolution d'un paludisme chronique et de départager les facteurs spécifiques des éléments impurs qui aggravent ces derniers.

Dans un dernier chapitre nous comparons les divers moyens d'exploration biologique entre eux, tels que les ont jugés ceux qui ont eu recours à eux.

B) Travaux personnels.

Dans une deuxième partie nous exposons nos résultats.

1. Conditions du travail.

Au préalable, nous décrivons nos conditions de travail, notre matériel d'observation, les techniques auxquelles nous avons fait appel, et le protocole opératoire utilisé.

2. Exposé des résultats.

Nos résultats proviennent, d'une part de l'étude séparée de chacune des réactions sérologiques qui nous ont paru les plus intéressantes : R.H., R.S., T.H., d'autre part, de leur comparaison entre elles. Nous avons, en effet, voulu mettre en valeur non seulement les défaillances et les excès dont sont responsables chacune d'elles en valeur absolue, mais les inconvénients ou les avantages qu'elles présentent les unes par rapport aux autres, sur tel ou tel point que nous développerons. C'est ainsi que nous essaierons de nous rendre compte, par exemple, si l'apparition de leur positivité ou leur extinction sont parallèles dans le temps. Bien entendu, les observations seront classées en différents groupes suivant le genre de cas auquel elles ressortissent. Apparemment tout au moins, il est bien évident qu'on ne peut attendre, chez les paludéens suspects seulement de malaria, un nombre aussi important de réactions positives que chez des malades dont le paludisme a été confirmé. A fortiori, cette proportion sera encore plus considérable chez ceux dont les accès auront été authentifiés par un examen parasitologique effectué peu de temps avant la recherche sérologique. Nous terminerons ce chapitre par l'étude électrophorétique de quelques sérums de sujets dont le paludisme a été récemment attesté par la présence d'hématozoaires dans le sang, et nous examinerons les perturbations protidiques apportées par la parasitose.

3. Discussion.

Nous essaierons de tirer quelques leçons de ces expériences sur la valeur des réactions et sur leur signification.

En ce qui concerne les R.H., notamment, nous en analyserons le mécanisme, sans prétendre du reste saisir tous les éléments du problème ni apporter une solution définitive : les antigènes de Henry sont-ils de simples indicateurs de déséquilibre protidique, ou peut-on leur attribuer une certaine spécificité dans le sens humoral du mot ?

A ce propos nous nous interrogerons sur les supports communément admis de l'immunité humorale.

Nous avons pensé intéressant d'établir un parallèle entre les antigènes lipoïdiques de la syphilis, et les réactifs de Henry, en examinant rapidement le problème des fausses positivités de la sérologie syphilitique dans le paludisme. Après avoir envisagé sommairement le problème de l'immunité dans les deux affections, nous étudierons celui de la nature respective des antigènes destinés à les diagnostiquer.

4. Conclusions.

Dans le dernier chapitre, nous résumerons les conclusions auxquelles nous sommes parvenu en passant brièvement en revue les résultats que nous a apportés cette étude.

L'EXPLORATION BIOLOGIQUE DANS LE PALUDISME

Très nombreux s'avèrent les moyens d'exploration mis en œuvre par les différents auteurs, dans le diagnostic du paludisme.

Nous laisserons de côté la recherche du parasite lui-même. La valeur des autres méthodes se révèle très inégale. Il est certain que les tests de labilité plasmatique par exemple n'ont jamais occupé une place prépondérante dans le diagnostic de la malaria. Sur le même plan se situent les épreuves chimiques et hématologiques qui définissent certains aspects de l'infestation palustre, mais sont seulement capables d'orienter vaguement la clinique.

RÉACTIONS SÉROLOGIQUES.

A. — RÉACTIONS PALUSTRES

Des réactions sérologiques, et au premier chef des R.P., on a pu penser a priori retirer plus de profit.

1. Techniques diverses (basées sur la recherche des parasitolysines, des hémolysines ou des précipitines).

C'est à Celli (28), comme le rappelle Mannoni (121) dans une thèse bien documentée, que revient le mérite d'avoir, le premier, recherché les effets sérologiques de l'infection palustre en suivant les propriétés agglutinantes du sérum sur l'hématozoaire.

En 1901, Lomonicho et Panichi (115) mettent en évidence les propriétés agglutinantes du sérum de paludéen à l'égard des hématies d'autres paludéens ou de sujets sains. Cette agglutination disparaîtrait quand on ajoute au sérum une quantité même faible de quinine.

Abrami et Senevet (1), ainsi que Pevny (135), ont remarqué une diminution des plasmodies à l'intérieur des hématies après contact du sérum des malades avec du sérum de paludéen.

Carnot (24), en 1917, reconnaît au sérum palustre des propriétés schizonticides qui n'apparaîtraient qu'à la fin de l'accès.

Pevny reprend un caillot sanguin dans un double volume d'eau distillée ; après séjour à l'étuve (auto-digestion) et centrifugation, le liquide surnageant, dilué dans des proportions convenables, est mélangé avec du sérum. Il se forme un précipité avec le sérum de paludéen à l'exclusion des sérums de dysentériques, typhiques, syphilitiques et de différents fiévreux.

Torrey et Kahn (173) constatent que les précipitines persistent dans le sang des canards infestés de *Plasmodium lophuræ* pendant une à deux semaines après la guérison. Cette dernière est toujours accompagnée de la formation de précipitines; la présence de ces anticorps n'indique cependant pas toujours la guérison.

Taliaferro (1927) (170) recherche les précipitines avec un antigène provenant d'un placenta humain parasité.

Blasi (19), en 1908, détermine le pouvoir hémolytique pour les globules rouges humains de sérums paludéens dilués au 1/5 et chauffés de 55 à 70° C.

2. Réactions de fixation du complément.

a) Réactions anciennes.

Blasi (19), en 1907, avait entrepris l'étude de la réaction de déviation du complément en utilisant comme antigène un sang riche en hématozoaires.

Ce sont aussi des hématies très parasitées qu'employèrent, d'après Rubinstein, Henry (70), Miacolli, Gasbarrini (in 153). Celui-ci prétend avoir obtenu de bons résultats en hémolysant les globules rouges dans de l'eau distillée; après dessiccation et pulvérisation, on dilue le réactif à 1/30; les sérums sont désensibilisés (sans qu'on nous dise en quoi consiste cette désensibilisation).

Thomson (1918) (in 184) et plus tard Szawtschenko et Baronow (1929) (in 184) font appel à un antigène analogue.

Bien d'autres furent utilisés: le cœur (Klingsbury) (97), le foie (Szawtschenko et Baronow) (in 153) de malades décédés, le placenta d'accouchée paludéenne. Horowitz et Wlassowa (89) coupent en petits morceaux 150 g. du délivre, les émulsionnent dans 100 g. d'eau distillée, et additionnent le mélange de quelques cristaux de thymol. Pour désagréger les plasmodies, ils ajoutent 0,10 g. de chlorhydrate de quinine. Après de fréquentes agitations du mélange, on place à l'étuve à 37° C. pour vingt-quatre heures. On filtre sur tarlatane. D'après leurs auteurs, la réaction s'est montrée négative dans 90,8 % de cas, chez des personnes sans antécédents palustres; les anticorps chez les sujets malades

peuvent apparaître au bout de 15 jours et persistent pendant près de 5 ans.

Picado (136) indique une réaction de fixation au sérum frais avec une solution récente de saccharose à 10 % dans l'eau distillée ; cette solution est dédoublée avec de l'eau physiologique et la dilution est employée aux doses de 0,1, 0,2, 0,3 cm³, comme s'il s'agissait d'un antigène pour réaction de Bordet-Wassermann.

Manson et Bahr (1927) (in 184), les premiers, utilisent l'intestin de moustiques parasités.

Toutes ces techniques ne rencontrèrent pas un grand succès. Nombre de leurs inventeurs ne s'en dissimulent pas eux-mêmes les inconvénients. Klingsbury trouve sa réaction (nette dans 50 % des cas seulement) d'une application pratique difficile. Manson et Bahr reconnaissent que, pour préparer 1 cc. d'antigène, il faut plus de 100 Anophèles, et que de nombreuses défaillances ou fausses positivités affaiblissent l'intérêt que cette réaction peut présenter. Blasi obtient des résultats aussi peu satisfaisants.

b) Réactions modernes.

Il faut arriver aux travaux modernes pour que les réactions de déviation du complément retrouvent quelque lustre.

Eaton, en 1939, avait déjà constaté l'existence in vitro d'agglutinines dans le sérum de singe infecté par **Plasmodium knowlesi**. En 1940, avec Coggeshall (52), il expérimentait une réaction de fixation avec un antigène préparé avec cette race d'hématozoaire.

La même année, Stratman-Thomas et Dulaney (167) inauguraient une série de travaux qui devaient conduire aux brillants résultats que nous exposerons. Ils se servent du sang de singe parasité par **P. knowlesi** sans pouvoir affirmer si les propriétés antigéniques proviennent du parasite lui-même ou du stroma des cellules parasitées. Cette technique apparaît déjà comme spécifique, car une syphilis pré-existante ne modifie pas la réaction.

Quatre ans après, Dulaney et Morrison (50) décrivent le mode de préparation détaillé de leurs antigènes.

Les auteurs séparent les parasites du sang laqué de singe infesté par **P. knowlesi**.

1° Extraits salins : Ce sont les premiers antigènes qui aient été utilisés. Les parasites desséchés sont broyés dans de l'eau physiologique, congelés et décongelés quatre ou cinq fois, et centrifugés.

2° Extraits tamponnés phosphatés : On ajoute aux parasites desséchés ou en suspension, un tampon phosphaté M/10 à pH 7,8-8, à raison de 10 cc. de tampon pour 0,1 cc. de parasite desséché. On congèle et on décongèle quatre fois. On recueille après centrifugation le liquide surnageant. On effectue deux nouvelles extractions. On réunit les extraits.

Cet antigène est six à huit fois plus actif que les précédents.

3° Extraits en tampon véronal : Un antigène très actif a été préparé avec les parasites desséchés mis au contact de 200 cc. de tampon véronal N/10 (pH 8,5). On dialyse dans de l'eau distillée, et on concentre contre une membrane semi-perméable à 5° C. jusqu'à 40 cc. On recueille le liquide surnageant après centrifugation.

4° Extraits obtenus par macération en tampon véronal et dissolution par la soude : Les parasites frais sont traités par du tampon véronal (pH 8,5) à la température du laboratoire pendant une heure. Une solution à 10 % de soude est ajoutée en agitant jusqu'à ce que les parasites soient dissous. On obtient une solution brun foncé qui est dialysée contre du tampon véronal pendant trois jours à 3° C. On recueille le liquide surnageant après centrifugation.

5° Extraits sodiques : On dissout les parasites dans de la soude 0,096 N. Puis on verse de l'acide chlorhydrique dilué jusqu'à pH 7. On concentre le liquide surnageant au quart du volume initial dans une membrane semi-perméable à 3° C.

Constitution et propriétés des antigènes.

1° Ce sont des lipoprotides complexes.

2° Les propriétés antigéniques des solutions salines, phosphatées, et tamponnées au véronal ne sont pas détruites par un chauffage au bain-marie à 56° C. pendant 1 heure, à 75° C., pendant 15 à 30 minutes et à 100° C. pendant 5 à 15 minutes.

3° On peut éliminer la plus grande partie du pigment par congélation ou dessiccation des extraits tamponnés. Celle-ci conduit à des préparations incolores et presque aussi actives que les extraits initiaux.

4° L'antigène ne dialyse pas quand il est laissé en présence d'une membrane semi-perméable suspendue dans de l'eau physiologique ou de l'eau distillée à 5° C.

Titrage de l'antigène.

L'activité antigénique est déterminée par titrage avec des sérums positifs et des sérums négatifs.

Exécution de la réaction.

Elle s'inspire de la microméthode de Kolmer utilisée dans la sérologie de la syphilis.

Les titrages du sérum hémolytique et du complément se font comme dans celle-ci.

Les volumes utilisés dans la réaction sont les suivants :

Sérum dilué à 1/2,5.	0,1 cc.
Antigène	0,1 cc.
Complément	0,2 cc.
(représentant 1/5 de 2 grosses unités).	

On laisse une nuit à la glacière. Puis on ajoute 0,2 cc. de globules rouges à 2 % sensibilisés (avec une quantité de sérum hémolytique correspondant à 1/5 de 2 unités).

On peut centrifuger pour lire le degré d'hémolyse.

Résultats.

Dans leurs recherches ultérieures, Sutliff, Dulaney et Davis (168) étudient avec l'extrait tamponné au phosphate 174 sujets répartis en quatre groupes :

1) Paludéens à parasitologie positive : 89 % de résultats positifs.

2) Malades ayant présenté cliniquement depuis moins d'un an un paludisme non confirmé parasitologiquement : 21 % de résultats positifs.

3) Paludéens dont les accès remontent à plus d'un an : résultats tous négatifs.

4) Rapatriés de zone d'endémie sans antécédents palustres : 0 réaction positive.

Dulaney et coll. attribuent à leur réaction une sensibilité moyenne de 82 %, analogue à celle dont jouit la méthode de la goutte épaisse. Ils reconnaissent avoir rencontré des erreurs par excès chez 8 % de non-paludéens, atteints de maladies diverses (lèpre, fièvre jaune, maladie de Chagas).

Rein, Bukantz, Kent, Cooper, Ruhe, Coatney (147) exposent aux piquûres d'anophèles infestés par du **P. vivax** des volontaires prisonniers en bonne santé, sans antécédents palustres. Des prélèvements sont effectués trois fois par semaine avant l'inoculation, du jour 0 au jour 16, et ensuite chaque semaine après le premier accès, et enfin trois fois par semaine dans la dernière période. On exécute sur ces prélèvements une réaction de fixation du complément dont l'antigène est un extrait tamponné aux phosphates alcalins de **P. knowlesi**, préparé suivant la méthode de Dulaney. La technique est la suivante :

Sérum inactivé dilué au 1/3	0,2 cc.
Antigène	0,2 cc.
Complément	0,2 cc.

18 heures entre 3 et 6° C. Ajouter 0,4 cc. d'hématies de mouton sensibilisées. 30 minutes au bain-marie à 37° C. Un témoin sans antigène est effectué en même temps. La lecture a lieu immédiatement et s'exprime de 0 à + + + +.

La réaction devient positive 5 à 7 jours après l'apparition de parasites dans le sang; elle ne la précède jamais, sauf bien entendu dans les cas de rechute, lorsque les réactions positives dues aux précédents accès n'ont pas eu le temps de s'éteindre. La durée de la positivité (42 jours pour le premier accès, 125 pour les rechutes répétées) est plus grande que celle de la parasitémie : celle-ci disparaît 4 à 5 jours après le début du traitement.

La réaction reste négative durant les longues périodes de latence, entre les premiers et les derniers accès.

Des réactions faussement positives se produisent avec les sérums syphilitiques.

C'est au **P. vivax** que Mayer et Heidelberger (125) se sont adressés pour déceler le paludisme latent. Ils reconnaissent que la réaction de fixation du complément s'est révélée dans cette recherche d'une valeur limitée ; ils constatent, en outre, que les antigènes solubles de **P. vivax**, purifiés réagissent avec les anticorps en cause dans la réaction de B.-W.

D'après Mlle Castellanos (26), la réaction de fixation utilisant un antigène préparé à l'Université de Tennessee avec du sang de Simiens plasmodiés serait peu pratique et ne se positiverait qu'au moment des accès.

On peut admettre cependant, d'après la plupart des chercheurs, que la sensibilité des méthodes utilisant **P. knowlesi** atteint un pourcentage considérable (82 à 86). La positivité apparaît 5 jours environ après le premier accès et demeure une quarantaine de jours. Mais ces brillants résultats ne s'observent que dans le paludisme aigu. Le paludisme latent n'influence pas la réaction.

3. Réactions de floculation.

En raison de leur importance, nous étudierons en deux chapitres distincts :

- les séro-réactions de Henry.
 - les réactions secondaires.
-

LES SÉRO-RÉACTIONS DE HENRY

Les réactions de Henry méritent la première place dans le groupe des réactions de floculation.

— Principes essentiels des R.H. :

« Rattachant au groupe des corps dits antigéniques des substances formées dans l'organisme sous diverses influences, nous avons créé le terme « endogène » pour désigner ces substances que nous pensions devoir provoquer des modifications sérologiques... réalisant en somme un état anti-endogénique ».

Henry (85), en s'exprimant ainsi, oppose donc ces antigènes produits dans l'organisme au cours de processus pathologiques divers à ceux qui proviennent de l'extérieur ou exo-antigènes.

Dans les viscères palustres, en dehors du pigment ocre, qu'on rencontre dans beaucoup d'autres affections, existe le pigment mélanique, beaucoup plus spécifique. S'appuyant sur l'aptitude que possède, d'après lui, ce pigment de susciter l'apparition dans le sérum des anticorps correspondants, Henry (69, 77), en 1927, au Congrès pour l'avancement des Sciences, proposait à Constantine une méthode sérologique qui utilisait comme réactif l'hémozoïne palustre.

I. RÉACTION A LA MÉLANINE

Modifications apportées par Henry à sa réaction.

Dans une première période, Henry abandonne le pigment malarique dont l'extraction présente des difficultés pratiques et lui substitue d'autres réactifs, en premier lieu la mélanine choroï-

dienne qui par son groupement aminé peut avoir quelques relations avec l'hémozoïne naturelle.

Il essaie successivement d'autres produits de remplacement : la mélanine de tumeur de cheval dont le spectre, d'après Henocque (68) présente les bandes de l'hématine réduite (on pourrait observer dans les tissus la transformation de l'hématine du sang en mélanine).

La mélanine de seiche proposée par Henry, en 1930, donne, d'après lui, de moins bons résultats.

Les ferro-floculations (71) à base d'albuminate de fer ou de métharfer ne présentent plus qu'un intérêt historique.

Henry, après d'autres auteurs, prépara une mélanine soluble, puis l'abandonna, lui reprochant d'être moins fidèle ; la solubilisation transforme la mélanine en un dérivé, la mélaïne (Piettre), qui ne possède plus les mêmes propriétés sérologiques. Toutefois, il rendit, en 1936, cette technique utilisable en ajoutant au réactif des traces de glycérophosphate de fer (74).

En effet, l'hémozoïne palustre est une mélanine ferrique. Aussi Henry fit-il bénéficier la mélanine choroïdienne de la même amélioration.

Il assura d'abord la stabilisation de ses réactifs avec du formol seul (72), puis avec du formol et du phénol associés (75).

Il a enfin adapté sa méthode, auparavant macroscopique, à la lecture photométrique (75).

Conditions de la réaction.

Les éléments que Henry retient pour garantir une technique rigoureuse de la sérofloculation palustre, sont les suivants (85) :

1. - La dilution saline est indispensable si l'on veut éviter à la réaction le reproche qu'on ne lui a que trop adressé d'exprimer une simple et banale floculance. Henry a adopté en photométrie le titre de 1/750, et celui de 1/900 en macroscopie. Le pH doit être très voisin de la neutralité. Henry met à l'étude un tampon à ajouter à ses réactifs.

II. - L'antigène sera titré soigneusement. « On fera en première approximation un réglage en dilution à un degré opacimétrique voisin de ceux que des expériences précédentes ont montré convenables, puis de ce réactif réglé, des dilutions croissantes et décroissantes essayées avec des sérums normaux, des sérums pathologiques non paludéens et paludéens. Et l'on choisira le titre le plus spécifique ». Ce qui revient à dire que le titrage optique doit être complété par un titrage clinique, de la même façon que pour les antigènes syphilitiques.

III. - On effectuera toujours un essai témoin avec du sérum inactivé. Le chauffage à 55° C. pendant une heure supprime le pouvoir spécifique et laisse à peu près intacte la floculance que Henry a appelée hydrosérofloculation ou surfloculance, et à laquelle il attache une signification très différente de la mélanofloculation proprement dite. Avec certains sérums, en effet, le témoin peut flocculer. Le résultat est alors sans valeur. Dans ce cas on doit relever le taux de la concentration saline jusqu'à la disparition de la surfloculance pour interpréter correctement les résultats.

IV. - La prise d'essai de sérum ne doit pas être trop faible, car une dilution trop considérable de ce dernier risque d'entraîner une instabilité sérique que la salinité du diluant ne parviendrait pas à compenser. Au-dessous de 0,15 cc., Henry conseille l'emploi d'une microméthode dont nous donnerons le protocole.

Technique.

La technique définitive suivante tient compte des arguments justificatifs exposés.

I. Préparation de l'antigène.

On prend des yeux de bœuf abattu le jour même. On les fend avec un scalpel. Après avoir éliminé le cristallin, on recueille dans un récipient stérile le vitré mélangé de pigment noir. On retourne sur l'index, en manière de doigt de gant, le fond du globe oculaire. A l'aide d'un bistouri, scarifier finement la choroïde et gratter pour recueillir le maximum de pigment. Faire couler en même

temps dans le récipient le liquide visqueux encore adhérent aux membranes. Toutefois, afin de ne pas diluer la mélanine, ne conserver en moyenne que le vitré de 3 yeux sur 4 disséqués.

Triturer longuement le magma tout en ajoutant par portions successives deux fois son volume d'eau distillée. Si nécessaire, sectionner les fragments de membranes avec des ciseaux, les mains gantées de caoutchouc stérile. Lorsque la mixture est suffisamment homogène, filtrer sur coton de verre, modérément tassé au fond d'un entonnoir. Centrifuger le filtrat une minute à 4.000 tours.

L'émulsion mélanique est additionnée de glycérophosphate de fer ammoniacal (l'auteur recommande le produit de Givaudan-Lavirotte, de Lyon) à raison de 15 cc. d'une solution à 1/500 de ce sel pour 1 litre de mélanine mère.

Le réactif est stabilisé en ajoutant à 1.000 cc. de mélanine 20 cc. d'une solution de phénol à 5 % et 1 cc. de formol commercial.

Le produit ainsi obtenu est conservé à l'abri de la lumière.

2. Titrage de la mélanine.

La mélanine est titrée un mois après sa préparation. Avant de titrer, on chauffe à 52° C. pendant 5 jours consécutifs, durant 6 heures.

On prélève un échantillon que l'on dilue de façon à obtenir au photomètre de Vernes un indice optique de 47 à 50. Une bonne dilution ne doit pas être inférieure au 1/10. Sinon, on peut améliorer le réactif, en lui ajoutant une mélanine d'un stock précédent plus concentré, ou en laissant sédimenter pendant 3 ou 4 jours au frigorifique et en rejetant le liquide clair de la partie supérieure du flacon. Dans ce cas où le réactif aura été remanié, il faudra bien entendu procéder à un nouveau chauffage dans les mêmes conditions que celles qui ont été indiquées plus haut.

On complétera par un titrage clinique en essayant diverses dilutions (1/10, 1/10,5, 1/11, etc.) en présence de sérums déjà testés de paludéens, de sujets sains, de malades atteints d'affections non palustres.

Le réactif sera réparti en ampoules ou en flacons de 10 cc.

3. Dilution de l'antigène.

On prépare dans de l'eau bi-distillée une solution de chlorure de sodium à 1/375. On stérilise.

Soit une mélanine dont le titre est 1/15 : 1 cc. de mélanine devra se trouver dans 15 cc. de mélanine diluée.

Dans un tube assez large, pour permettre une agitation convenable, on introduit successivement :

Mélanine-mère	1 cc.
Eau salée à 1/375	1 cc.
Eau salée à 1/375	6,5 cc.
Eau bi-distillée	6,5 cc.

On obtient ainsi 15 cc. de mélange salé à 1/750 qu'on agite.

4. Exécution de la réaction.

On utilisera une verrerie neutre, particulièrement propre. Les sérums proviendront de sujets à jeun, non imprégnés de médicaments tels que les sels d'or ou les produits sulfonés. Ils ne devront être ni lactescents, ni hémolysés, et attendront 12 à 48 heures, après le prélèvement de sang la séparation du caillot (la surfloculance banale éventuelle est parfois moins forte le lendemain que le jour même du prélèvement).

On dispose 3 tubes.

Dans le tube n° 1, on introduit :

Mélanine diluée	1 cc.
Sérum non chauffé	0,25 cc.

Dans le tube n° 2 :

Mélanine diluée	1 cc.
Sérum chauffé 1 h. à 55° C.	0,25 cc.

5. Lecture photométrique.

Les tubes subissent 3 renversements avant d'être versés dans les cuves, afin d'assurer une homogénéisation correcte du liquide.

On lit à l'appareil de Vernes, Bricq et Yvon, avec l'écran Wratton n° 70 ; la densité optique s'obtient en retranchant le chiffre donné par le tube n° 2 (témoin) du chiffre donné par le tube n° 1 (tube réaction) ; le chiffre d'instabilité est noté à part.

6. Interprétation.

Henry donne les limites suivantes : de 0 à 12, réaction négative ; de 12 à 20, zone d'éveil ou de surveillance ; de 21 à 25, apludisme probable ; à 25 et au-dessus, sérum paludéen.

Remarques.

1) Si le degré photométrique du tube n° 2 est plus élevé que celui du tube n° 1, recommencer la réaction en utilisant une dilution) 2 pour 1000.

La dilution de l'antigène se fera ainsi :

Mélanine	1 cc.
Eau salée à 4 p. 1000.....	1 cc.
Eau salée à 2 p. 1000.....	13 cc.

Si, malgré cette précaution, l'indice optique du témoin dépasse encore celui de l'essai, recommencer encore avec de l'eau salée à 3 p. 1000.

2) On peut pratiquer une microréaction avec :

0,05 cc. de sérum,

0,4 cc. de solution de mélanine.

On se servira de petits tubes de 8 mm. de diamètre.

Valeur attribuée à la réaction.

La malariefloculation gagna rapidement la faveur des biologistes. Nous ne ferons pas état de toutes les publications qu'inspirèrent la nouvelle réaction. Nous mentionnerons seulement celles qui nous paraissent les plus significatives, ou qui nous intéressent directement.

Au point de vue clinique, Le Bourdelles et Liégeois (107), Le Bourdelles et Fribourg-Blanc (106) signalent que la réaction est presque toujours positive dans le paludisme en évolution. Pendant la période de latence elle est négative. La négativité est la règle chez les non-paludéens ou chez les paludéens rapatriés et ne présentant plus de signes cliniques de paludisme évolutif. Lorsque dans les mois qui suivent le retour en Europe, une série d'accès se produit, il se peut que la réaction se montre exceptionnellement négative après le premier accès. Elle devient ensuite très rapidement positive. La malariefloculation confirme donc pour Le Bourdelles et ses collaborateurs, la rareté du paludisme chronique des rapatriés, affirmée par Rieux dès 1921.

Dans le même paludisme de reviviscence, la floculation à la mélanine ferrique n'a pas donné à Landon (102) un pourcentage de positivités aussi élevé qu'il l'espérait. Il attribue ce fait à la prophylaxie de plus en plus régulière à la nivaquine, à la paludrine,

imposée à ceux qui sont destinés à séjourner en zone d'endémie. Le maximum de positivité est de 60 % au moment de l'accès et dans les 10 jours qui le suivent, et garde encore une valeur de 26 % en dépit des traitements, plus de deux mois après le dernier accès. Si l'on ne tient compte que des cas où l'hématozoaire a été décelé le jour de l'examen sérologique, ce taux passe à 74 %, et à 63 % de 2 à 10 jours après le dernier accès dont la date et l'existence ont été rapportées dans plusieurs cas par le malade lui-même. Les sujets qui gardent une R.H. positive plus de deux mois après le dernier accès de reviviscence sont peut-être destinés à des évolutions viscérales futures.

Henry (76) souligne ainsi la portée de sa réaction : « La réaction de mélanofloculation est un signe de paludisme actif bien ou mal supporté, évident ou latent... Le phénomène... apparaît après le cinquième ou le sixième accès paludéen dans les formes intermittentes. Pendant les accès la réaction peut être affaiblie dans les infections anciennes, parfois même négative dans les infections récentes. Cela n'est guère fâcheux puisqu'on a à sa disposition, pendant l'accès, la constatation du parasite. Dans les formes d'invasion à fièvre subcontinue à *P. præcox* (formes pseudo-typhiques), malgré les données cliniques, le diagnostic peut être difficile, l'examen microscopique pouvant avoir des défaillances. Pendant la période des accès réguliers, ajoute Henry, il peut arriver que le malade ne puisse être observé qu'en l'absence de fièvre. L'avantage reste alors à la sérologie.

Trensz (178) considère aussi que la réaction est utile après les accès de fièvre, en l'absence de parasitémie. La négativité permet d'écarter la malaria.

Raynal (146) utilise volontiers la R.H. dans le paludisme larvé en évolution, dans les cas chroniques non traités et non spontanément guéris.

Vialatte et Remontet (182) estiment que la réaction persiste longtemps après la disparition des parasites dans le sang, à des signes cliniques.

Weil (192) la recommande dans les splénomégalias.

Henry (76), Le Bourdelles (104), Le Bourdelles et Fribourg-Blanc (106), apprécient également la R.H. pour les services qu'elle rend dans le contrôle du traitement : « Dans les infections récentes, dit

Henry, la réaction est facilement négativée par le traitement ». Chorine (33), chez les impaludés quininisés, affirme qu'elle n'est pas influencée pendant 10 jours; mais qu'au bout de ce délai elle diminue d'intensité pour s'éteindre ensuite. Pour les paludismes spontanés, il faut, d'après Le Bourdelles et Fribourg-Blanc, 30 à 70 jours de traitement pour négativer la réaction. Une baisse régulière et prolongée des courbes sérologiques indique une amélioration certaine, mais la guérison n'est probable que si cette courbe aboutit à une négativation constatée à plusieurs reprises et en dehors de tout traitement. « Dans le cas où la réaction persiste, remarque Henry, ou bien si, ayant disparu, elle reparait, craindre une rechute et traiter... Dans les affections déjà anciennes, la négativation est beaucoup plus difficile ». Quand la sérologie est d'emblée insensible au traitement, il s'agit, selon Trenszy, soit d'affections aiguës, avec parasitémie périphérique, chez qui le traitement a été inopérant, soit de paludismes anciens chez lesquels la prémunition est supposée; dans ce dernier cas, il faut craindre les fausses interprétations des manifestations fébriles, et rechercher toujours l'hématozoaire.

Dans le paludisme d'inoculation chez les paralytiques généraux la réaction est négative en période d'incubation. Elle se développe après un certain nombre d'accès (2 à 10), le cinquième en général (Henry, 82), et demeure positive un certain temps après l'extinction du paludisme. Au cours des premiers accès, elle peut être muette au moment de l'acmé, alors qu'elle est déjà positive dans les intervalles (Chorine, Henry, Le Bourdelles).

La sensibilité de la réaction a été rarement contestée. Vaucel et Hoang Tich Try (in 104), sur 539 sérums de paludéens avérés, comptent 85,2 % de résultats positifs. Presque tous les auteurs partagent cette opinion.

Citons les conclusions particulièrement favorables qu'a tirées Mannoni (121) de son enquête sur les résultats obtenus par Henry sur 7.000 sérums, par Le Bourdelles et Liégeois, Trenszy, Chrine, Corradetti, Fargeot, Raynal, Meersseman.

1° La réaction est reconnue positive chez les primo-impaludés à partir du cinquième ou sixième accès et pendant les intervalles apyrétiques. Le pourcentage de positivité est voisin de 100 %.

2° La floculation s'atténue considérablement et peut même disparaître lors des accès fébriles.

3° Au cours du paludisme de récidence, le pourcentage de la positivité est de l'ordre de 95 à 100 %.

4° En cas de paludisme chronique, elle est reconnue positive dans 80 à 90 % des cas.

5° Chez les anciens paludéens soumis à une infestation de courte durée et rapatriés, les réactions positives ont un pourcentage général de 5 % ; au contraire, si le sujet a été soumis à plusieurs réinfections, le pourcentage de positivité s'élève de 30 à 50 %, même en l'absence de lésions viscérales.

Les travaux considérables de Vilkki (184) n'ont pas eu le retentissement qu'ils méritaient. Il expose d'une façon détaillée l'opinion d'une soixantaine d'auteurs, opinion qui peut se résumer ainsi :

La R.H. ne peut à elle seule permettre de poser un diagnostic positif, mais constitue un appoint appréciable. C'est un symptôme biologique d'une grande valeur. Une réaction négative élimine la malaria avec une grande probabilité.

La signification la plus grande de la R.H. réside dans la constance qui caractérise sa positivité comme symptôme du paludisme.

A la suite de la thérapeutique spécifique, la R.H. est pleine de valeur et aide à poser le pronostic.

En épidémiologie, pour la détermination de l'index endemicus, la R.H. est supérieure aux autres méthodes d'investigations.

Ses recherches personnelles le conduisent à ces statistiques solidement étayées :

Sur 155 cas divers de malaria (233 examens), et sur 189 cas de malaria soupçonnée, la réaction s'est montrée positive dans 85 à 95 % :

— Chez les sujets suspects de paludisme 29 % de résultats positifs.

— Dans le paludisme clinique 94 %.

— Dans la malaria soignée et irréductible (« malaria inveterata sanata ») les résultats sont négatifs.

— La malaria d'inoculation a donné des réactions positives dans tous les cas à une exception près.

— Dans la malaria évolutive, où les réactions ont été souvent répétées, la positivité est particulièrement forte.

— Les réactions négatives excluent avec un gros pourcentage de probabilité, un paludisme en activité.

— « Pronostiquement, une réaction positive comporte un net danger de rechute, d'autant plus grand que la R.H. a été trouvée plus forte après un temps plus long, après la fin de la thérapeutique spécifique ».

Critiques adressées à la R.H.

a) Au sujet de sa spécificité.

Si certains, comme Thilliard (172) qui n'a déploré qu'une erreur sur 492 observations, ont vanté la spécificité de la mélanoréaction, un grand nombre d'auteurs reprochent à la R.H. d'être assez souvent positive en dehors du paludisme. Ces critiques manquent d'ailleurs d'homogénéité.

Vaucel et Hoang Tich Try (in 104), sur les indigènes sans antécédents palustres, constatent de 23,9 à 45,9 % de résultats positifs.

Le Bourdelles (105), Meersseman et Lacour (127), Lacour (101), dans les affections qui entraînent la R.H. à des erreurs par excès, relèvent des cirrhoses, la syphilis, la congestion pleuro-pulmonaire, le kala-azar. « Mais ces causes sont rares... la réaction de Henry est positive dans un petit nombre d'infections, particulièrement dans d'autres protozooses sanguines (Leishmanioses viscérales) » (Le Bourdelles).

Marchoux et Chorine (122) admettent que la réaction est faussement positive dans 8 % des cas.

Les principales causes d'erreurs seraient, en dehors du kala-azar (Villain et Dupoux, 186), Lebon et Fabregoule (103), Chorine (36), Benhamou et Gille, 13), la typhoïde (Villain et Dupoux), (Akashi et Nakashima, 4), le typhus (Akashi et Nakashima), l'anémie pernicieuse (Akashi et Nakashima), la syphilis (Villain et Dupoux).

Nous ne poursuivrons pas une aussi fastidieuse énumération. Vilki (184), dans un tableau très complet, ayant présenté les statistiques de très nombreux auteurs qui se sont occupés de la spécificité de la R.H. : la liste des affections où la R.H. a pu être mise en défaut comporte un nombre d'états très variés, depuis l'apoplexie jusqu'aux ectasies des veines hémorroïdes, en passant par l'arthrite gonococcique, la leucémie et l'influenza.

Sur 180 sujets Le Bourdelles et Liégeois (107) ont constaté des réactions constamment négatives. C'est la syphilis qui entraîna le plus d'erreurs par excès : 16 sur 46 (35 %) pour Lippelt (107) et Livierato et Salata (111), 9 sur 66 syphilis à sérologie positive et 19 sur 79 syphilis à sérologie négative. La tuberculose est responsable de 3 erreurs sur 7 cas (Lippelt). Dans la trypanosomiase, les réactions sont constamment positives (Matveev, 124).

D'après Vilkki lui-même, la syphilis séro-positive intervient comme cause d'erreur dans 9 % des cas (15 sur 175), la tuberculose dans 8 % des cas (4 sur 49), la gestation dans 2 % des cas (2 sur 44).

Dans 174 cas d'autres maladies (anémies diverses, asthme, diabète, cardiopathies, gastro-entérites, maladies infectieuses aiguës, Hodgkin, névropathies, salmonelloses, polyarthrites, ulcus, etc...), il a compté 21 réactions positives (soit 12 %), celles-ci affectant surtout le typhus exanthématique, les salmonelloses. En tout, sur 694 cas, il a trouvé 41 réactions positives, c'est-à-dire 6 %.

Dans les maladies du foie, la spécificité de la R.H. apparaît sous un jour moins favorable, au point que Decourt (in 160) affirme: « Cette réaction... devrait faire partie de l'examen biologique systématique des maladies chez lesquelles on peut soupçonner une atteinte hépatique... ».

Volavsek (187) mentionne que la cirrhose donne en général des réactions positives. Lacour (101) avait déjà signalé en 1934 3 fausses positivités sur 3 dans l'ictère hémolytique.

Costadoni (38), Kappus (94), Brandt (in 184) et Horn (in 184), Ravina et Maignan (145), Trenszt (678) comptent de nombreux cas d'ictère ou de cirrhose avec R.H. aberrantes.

Vilkki (184), effectuant systématiquement des R.H. sur un certain nombre d'affections hépatiques, relève les erreurs suivantes : 3 réactions positives sur 4 cas d'angiocholite, 1 sur 7 dans la lithiase biliaire, 2 sur 11 dans les congestions hépatiques, 1 sur 19 dans des ictères au salvarsan, mais aucune dans 6 tumeurs du foie. De l'examen de 288 sujets (996 R.H.) atteints d'hépatite épidémique, dont les deux tiers étaient âgés de moins de 25 ans, Vilkki conclut : « Une R.H. positive constitue un symptôme très constant de l'hépatite. Le plus fort pourcentage de positivité s'observe

surtout pendant la première semaine. C'est aussi au cours des huit premiers jours qu'on rencontre les réactions les plus intenses.

Réfutation de ces critiques par Henry.

Henry (80, 85) s'élève avec force contre les accusations de non-spécificité dont sa réaction est l'objet.

Il y répond dans un article spécial consacré à la positivité de la mélanofloculation dans le paludisme et le kala-azar.

L'emploi du témoin-sérum (tube avec sérum chauffé) empêche de conclure faussement à une infection palustre. En effet, si dans le témoin se produit une floculation, il s'agit d'une instabilité sérique banale qui annule la réaction. On doit alors recommencer avec un taux de sel stabilisant, suffisant pour inhiber l'hydrosérofloculation. Mais si dans ce dernier cas on ne constate aucune floculation dans le tube témoin, alors que le tube réaction est positif, on doit admettre qu'il s'agit d'une malaria concomitante. Donc, une mélanofloculation réellement positive chez un malade atteint de kala-azar conduit au diagnostic de paludisme associé. A l'appui de cette remarque, Henry cite deux observations personnelles et une autre observation de Boucher, Seigneurin et Raymond (in 85) ainsi qu'un cas analogue publié par Codonis (in 85) en Grèce.

C'est aussi à cause de cette instabilité sérique commune dont la mélanofloculation est un phénomène bien distinct, insiste Henry, que l'on a prétendu que la R.H. était positive dans le typhus humain et dans le typhus expérimental. Trensztz (175) dans la trypanosomiase de Debabb inoculée à des cobayes et des lapins, avait cru que la mélanofloculation dans cette affection se réduisait à une instabilité sérique manifestée par la mélanine. Ultérieurement Trensztz (177) rejeta cette assimilation et distingua les deux phénomènes.

Revenant tout récemment sur le problème de la positivité de la R.H. dans le typhus, Henry (85) objecte que les observations qu'on lui oppose concernaient des paludéens. Les réactions étaient négatives, ajoute-t-il, chez des Européens non impaludés. Quant au typhus expérimental, il ne peut être invoqué à l'encontre de la R.H. ; comment tenir compte d' « un phénomène inconstant chez les animaux de laboratoire infestés massivement par des

agents dont l'action hémodyscrasique se caractérise avant tout par l'instabilité sérique déjà constatée par Ebstein (53) chez des humains atteints de typhus chez lesquels cependant nous écartons les fausses réactions par le procédé témoin sérum chauffé ».

Et Henry de s'écrier: « Nous voyons ensuite étaler des réactions positives observées dans les affections les plus diverses. La sécurité demandée à notre réaction ne s'accommode pas toujours des variantes qui ont été proposées... Nous réclapons la technique que nous préconisons ».

b) Au sujet de sa valeur immunologique.

La spécificité immunologique de la R.H. apparaît à certains aussi peu évidente que sa spécificité clinique.

Les mélanines choroïdiennes et cutanées semblent à Le Bourdelles (105) très différentes des pigments sanguins dont dérive la mélanine palustre ; elle est due à l'action d'un ferment mélanique cutané sur un chromogène (Dopa de Bruno Bloch).

Pour Greig, Van Rooyen et Hendry (64), Le Bourdelles et Velluz (108 bis), Pikoul et Osipova (137), Proske et Watson (139), Akashi et Nakashima (4), la mélanine utilisée par Henry n'est qu'un indicateur et non un antigène. On peut aussi bien la remplacer par du carmin (Chorine), les substances introduites dans la réaction seraient de simples détecteurs de l'hyperfloculabilité banale des sérums paludéens.

Trensz (175) reproche à Henry d'employer la mélanine choroïdienne comme antigène à la place de l'hémozoïne naturelle palustre, alors qu'elles sont chimiquement distinctes l'une de l'autre.

D'ailleurs, pour Moegraith (in 85), Anderson et Morrison (in 85), même l'hémozoïne naturelle ne saurait constituer un antigène, car elle n'est pas soluble. Ce n'est pas un endogène spécifique. Quelques expériences de Trensz, rapportées par Mannoni (121) (floculations massives dans la trypanosomiose caméline et la leishmaniose canine), démontrent, prétend Trensz, que la R.H. peut être positive dans le sérum d'animaux infectés avec des protozoaires ne produisant aucun pigment ferrugineux ni mélanique.

Si Adant (2 bis) et Chorine (32), le chef de file des détracteurs de la théorie immunologique de Henry, reconnaissent des propriétés antigéniques à la mélanine, c'est dans le seul cas d'animaux privés normalement de ce pigment. Huit injections intraveineuses

d'une dilution de mélanine provenant de sarcome de cheval, pratiquées chez des lapins non albinos, ne suscitent dans le sérum de ces derniers aucune positivité à l'égard de la R. H.

D'autre part, la mélanofloculation apparaît de 3 à 7 jours après l'infection, remarque Chorine. Les anticorps mettent bien plus longtemps à se développer. Enfin la R.H. est effectuée en eau distillée ou en solution hypotonique, alors que les anticorps agissent en solution isotonique ou même légèrement hypertonique.

Le chauffage à 55° C. pendant 30 minutes négative la R.H. car le dégagement d'anhydride carbonique alcalinise le sérum (Chorine 32, Prudhomme 140). Si des anticorps spécifiques étaient responsables de la réaction, ils résisteraient à une température de 55° C.

Westphal (193) conteste à la mélanine la qualité même d'haptène. Les expériences de Kritschewski et de Rubinstein (100), conférant au sérum de porc la propriété de transformer la mélanine d'œil de bœuf en antigène, sont discutables. Le sérum de porc est capable, injecté seul, de faire naître dans le sang des lapins inoculés, des propriétés floculantes vis-à-vis de la mélanine de Henry. La réaction dépend de l'hôte : chez le chat ou chez le chien, on obtiendra des réactions positives, alors que chez d'autres espèces la R.H. sera négative. Or, prétend Westphal, la qualité d'anticorps s'oppose à cette constatation.

Hormann (88), Volavsek (187), Benhamou et Gille (13), Vaucel (181) estiment que la séroréaction de Henry ne traduit qu'un déséquilibre lipoprotidique du sérum, très fréquent dans les populations polyparasitées. Ce déséquilibre peut être mis en évidence par la dilution au dixième des mêmes sérums dans l'eau distillée. La mélanine, utilisée dans la réaction, n'est pas un antigène, mais un témoin (Vaucel).

En déterminant le taux de la tyrosinémie — ce qui revient à estimer l'importance de la fraction euglobulinique du sérum —, on doit obtenir les mêmes indications qu'avec l'exécution de la malariafloculation (Proske et Watson, 139).

La R.H. comme la floculation du sérum dans l'eau distillée, la réaction de Vernes à la résorcine, et la formolgéification sont influencées par la richesse du sérum en euglobulines, affirme Chorine (33, 35), qui ajoute à du sérum de cheval des quantités crois-

santes de ces fractions protidiques. A partir de 2 à 6 grammes par litre, la R.H. est positive ; de 7 à 8 grammes le Vernes-resorcine devient positif à son tour. Au-dessus, les quatre réactions sont toutes positives. La délimitation des zones de spécificité dépend d'ailleurs davantage des variations des rapports euglobulines, pseudoglobulines et euglobulines /sérum-albumine que de la quantité de globulines dans le sérum. Les euglobulines des sérums paludéens ne possèdent, poursuit Chorine (34), aucune affinité spéciale pour la mélanine. Tous les sérums humains ou animaux floclent en présence de ce réactif, à condition d'augmenter la proportion de mélanine ou d'abaisser le pH.

D'après Benhamou et Gille (13), l'intensité de la flocculation est directement proportionnelle à la quantité de globuline présente dans le sérum et inversement proportionnelle à celles des albumines et du cholestérol. L'indice de flocculation, qu'ils définissent comme étant le rapport euglobuline/sérum albumine + cholestérol, est chez les sujets normaux de 0,01 à 0,05. Chez les paludéens, il s'élève à 0,10-0,30 et dans le kala-azar à 0,15-1.

Réfutation de ces critiques par Henry et les partisans de sa méthode.

D'Alessandro et Sicari (39) constatent que la fraction globulique précipitée par l'eau distillée réagit différemment en présence de mélanine suivant qu'elle provient du sérum de sujets sains ou de malades atteints de malaria. Seule la globuline de sérum de paludéen conduit à une R.H. positive, les autres composants protidiques se comportent vis-à-vis de l'antigène mélanique identiquement les uns par rapport aux autres : aucune flocculation ne se produit. Les auteurs concluent que les euglobulines paludéennes jouissent d'une affinité spéciale pour la mélanine.

Trensz (176) lui-même admet que, contrairement à l'avis de Chorine, la surflocculation est différente de la mélanoflocculation. Les courbes respectives de ces deux phénomènes n'évoluent pas parallèlement suivant la concentration des divers ions salins qui entrent dans la réaction. En délipidant des sérums paludéens par l'acétone, il négative la R.H.; il en déduit que c'est par leur union à des lipoïdes que les globulines interviennent dans le mécanisme de la malariaflocculation. L'importance du rôle des lipoïdes est connue depuis longtemps en immunologie. L'auteur attribue au S.R.E. la responsabilité d'une spécialisation des globulines dans le sens d'une mélanosensibilité.

Henry (76), qui fait état de ces considérations, rappelle le rôle de ce S.R.E. dans la formation des anticorps « dont la nature et le mode d'action sont loin d'être totalement élucidés ».

Basegra (9) constate que la présence de mélanine inhibe les réactions de déviation du complément. Mais il n'en infère pas que la R.H. soit une réaction antigène-anticorps.

Thilliard (172), comparant les résultats obtenus par Chorine à ceux de Henry, en tire argument en faveur de ce dernier. Il estime qu'à une spécificité clinique aussi remarquable doit correspondre une spécificité immunologique.

Les critiques visant la valeur immunologique de la R.H. ont été réfutées par Henry lui-même au cours de son intervention au Congrès International du Paludisme d'Istanbul en 1953. Il s'attaque successivement aux arguments de ses adversaires :

1° La mélanine n'est pas un antigène.

Chorine, dit-il, est obligé de reconnaître que, au moins pour les animaux dépourvus de pigments (lapins albinos), la mélanine se comporte comme un antigène.

Rocchi (150) a bien mis en évidence les qualités floculantes que l'injection d'hémozoïne naturelle provoque dans l'organisme. Pour-quoi une substance voisine comme la mélanine choroïdienne ne posséderait-elle pas, même à un degré moindre, les mêmes propriétés ?

2° La mélanine n'est même pas un haptène.

Cette critique repose sur la contre-expérience de Westphal (injections de sérum de porc à des lapins). Alors que Westphal a obtenu avec l'injection du sérum de porc seul une floculation, Chorine (32) qui s'est livré à la même expérience, ne fait apparaître aucune floculabilité dans le sang des lapins.

D'ailleurs, ajoute Henry, les travaux effectués par la suite par Kritschewski et Demidova (99) sur des oiseaux de l'espèce *Acanthis linaria*, ont été beaucoup plus concluants : les animaux inoculés et le matériel d'inoculation provenaient de la même espèce. Du sang très parasité, abandonné 48 heures à la glacière, puis injecté à d'autres oiseaux, provoque chez ces derniers l'apparition de propriétés floculantes.

3° La réaction ne se produit qu'en milieu hypotonique, alors que les vrais anticorps ne fonctionnent qu'en isotonie.

Henry fait remarquer que le résidu d'évaporation de la solution mélanique, ajouté directement au sérum de paludéens, provoque une turbidité au photomètre nettement plus élevée que dans le cas d'un sérum normal (Lourteau 117, Trenszt in 85).

« Il faut noter également que si certaines précipitines agissent en eau physiologique, elles peuvent se manifester aussi en eau faiblement salée à 0,2 pour 1.000 (Culbertson in 85). Et la vitesse de précipitation décroît en augmentant le taux de sel à partir de 2 pour 1.000. » Or, la R.H. s'effectue depuis longtemps en eau faiblement salée à 1/750 et, dans le cas de surfloculance, à 3 pour 1.000.

4° La R.H. est inhibée par chauffage à 55° C. pendant une demi-heure.

Henry cite de nombreux cas où le chauffage détruit ou affaiblit les anticorps (sensibilisatrice hémolytique de sérum de grenouille) (Rubinstein), anticorps complets R.H. (Cazal et Elliott, 27).

Quant à l'influence éventuelle du dégagement de gaz carbonique sur le pH, « on aura beau faire passer la même quantité de CO² dans des sérums normaux chauffés, une mélanofloculation ne sera pas positive ». Henry propose pour l'interprétation de l'inactivation du sérum par chauffage, les hypothèses de Hirsch et Liebers (87) (augmentation du degré de dispersion des molécules avec la diminution du pH) et de Achard, Boutaric et Doladile (2) (abaissement du volume des globulines qui sédimentent moins facilement).

5° La réaction à la mélanine apparaît de 3 à 7 jours après l'impaludation. La formation d'anticorps spécifiques demanderait deux ou trois fois plus de temps.

Il n'est pas exceptionnel de voir les anticorps spécifiques apparaître entre 2-3 jours ; les agglutinines antityphiques peuvent se manifester le troisième jour (Rocchi, in 85), l'anticorps antipesteux peut provoquer une floculation typique avec le bacille de Yersin dix heures après l'injection sous-cutanée de vaccin (Ramon, 142).

6° Les anticorps sont indépendants dans leur action de la variété d'organisme qui les forme.

On pourrait citer en immunologie, rétorque Henry, des différences chez divers animaux en ce qui concerne le comportement de certains anticorps. Les mêmes anticorps bactéricides peuvent

être thermostables chez l'homme et thermolabiles chez le cheval (Berthold et Hannes).

7° La mélanine est un simple index de déséquilibre protidique.

Rocchi (150) a montré la solubilité du véritable pigment palustre en plasma hépariné. En solution alcaline le pigment isolé de rates humaines, injecté à des lapins, permet d'obtenir un sérum qui fait flocculer la solution d'hémozoïne.

Moegraith (in 85), qui avait d'abord pensé que l'hémozoïne ne pouvait être libérée sous une forme soluble, révisa son jugement au Congrès d'Istanbul où il s'exprime ainsi : « Malaria pigment is believed to be harmless. This later point may however need reexamination ».

Henry, qui rapporte ce propos, s'explique ensuite sur les interférences possibles entre sa réaction et le déséquilibre protidique du sérum : « Au cours de différentes affections, les phénomènes d'instabilité sérique viennent compliquer les réactions immunologiques essentielles... Nos réactifs comportent en même temps qu'un élément spécifique, un caractère colloïdal d'ordre général pouvant amorcer des réactions de labilité sérique, obscurcissant ou simulant des immuno-réactions. Depuis longtemps, nous nous sommes efforcé de dissocier les deux phénomènes en sérologie palustre. »

Ainsi, des facteurs non spécifiques, eau distillée, colloïdes, diminuent d'après Henry, la stabilité des dilutions en eau salée. La mélanoflocculation n'en reste pas moins « le signe sérologique primitif essentiel, quasi-spécifique et constant de l'infection palustre » (76).

Ces réfutations définissent la théorie de Henry sur le mécanisme de sa réaction et sur la valeur immunologique de ses antigènes. De cette position à celle de Chorine, toutes les nuances sont représentées. Mannoni (121) expose assez bien les thèses en présence en les répartissant en quatre groupes :

1) La théorie de Henry. Nous n'y reviendrons pas.

2) La théorie de Le Bourdelles et Liégeois qui estiment que les facteurs non spécifiques tels que le déséquilibre sérine-globuline n'arrive pas à tout expliquer.

3) La théorie de Chorine et Gillier. Seul compterait dans le mécanisme de la R.H. le déséquilibre cristallo-colloïdien du sérum

des paludéens en présence d'eau distillée. La R.H. serait donc uniquement due à l'instabilité du sérum dans l'eau distillée. Le rôle de la mélanine se bornerait à celui d'un indicateur.

4) La théorie de Gille qui se rapproche beaucoup de la précédente : la R.H. se ramènerait à une simple floculation entre colloïdes de signes contraires : l'hydrate ferrique du réactif mélanique étant électro-positif, et la globuline constituant l'émulsoïde.

Vilkki (184) résume ainsi l'étude de la littérature consacrée à ce sujet :

1° Différents sels exercent sur la R.H. leur influence propre.

2° Le rôle du pH est probablement secondaire. Mais il est certain que le chauffage inactive le sérum et qu'un courant de CO_2 lui restitue son état primitif.

3° Le taux du cholestérol sanguin compte dans une certaine mesure, mais cette mesure n'est probablement pas considérable.

4° On s'accorde à admettre l'influence d'une fraction euglobulinique labile du sérum des paludéens.

5° Il n'est pas démontré que le pigment malarique soit vraiment un endogène. Mais « aucune des substances que l'on a voulu substituer aux réactifs de Henry ne s'est avérée aussi profitable ». Il n'est pas non plus établi que la R.H. fasse partie des réactions antigène-anticorps. Mais on ne peut la réduire à la simple expression d'un état de labilité plasmatique.

2. RÉACTION A L'HÉMOZOÏNE ARTIFICIELLE (78, 79)

Justification et conditions de la réaction.

Trensz (175) avait prétendu que la mélanine choroïdienne constituait un antigène trop éloigné de l'hémozoïne naturelle palustre. Il avait, du reste avec des résultats moins satisfaisants, utilisé l'hémozoïne palustre naturelle à la place de la mélanine choroïdienne dans la R.H. Greig, Van Rooyen, Hendry (64) reprochaient aux réactifs de Henry de contenir trop de protéines de bœuf. D'autres critiques du même genre, ainsi que les travaux de Rocchi (151) et de Sinton (164), ont conduit Henry à la préparation d'une hémozoïne artificielle à partir du sang. L'hémozoïne, affirme Henry, est une sorte d'hématine ; en utilisant du sang hémolysé, traité par l'acide chlorhydrique et l'eau oxygénée, après neutra-

lisation par l'acide, on obtient un précipité qui présente, d'après Weise (in 86), les principales propriétés de l'hémozoïne.

— Le réactif sérologique est une suspension colloïdale du pigment dans l'alcool sodé.

— Les recommandations prescrites par Henry pour la mélanofloculation sur la nécessité d'un tirage photométrique doublé d'un titrage clinique sont valables ici aussi.

— Le chlorure d'ammonium, dont Trensztz a montré les avantages en sérologie, a été adopté par Henry pour la préparation des liquides en dilution. Ce sel respecte, en effet, d'une façon encore plus satisfaisante que le chlorure de sodium seul, la floculation spécifique en atténuant fortement la surfloculance banale.

— Le témoin est effectué selon les mêmes principes qui ont guidé sa réalisation pour la mélanofloculation : dilution hémozoïque + sérum chauffé. En effet, dit Henry, le diluant salin diminue beaucoup plus la surfloculance banale d'un sérum seul, même non paludéen, que si le sérum est additionné de mélanine ; tout se passant comme si une partie des ions salins était bloquée par le réactif. Dès lors, l'absence totale ou partielle de floculation du témoin sérum + diluant pourrait en imposer faussement pour une réaction positive.

Au contraire, avec le témoin sérum chauffé + réactif, la floculation spécifique étant supprimée par le chauffage, si la surfloculation se manifeste, la réaction est annulée. Il faut alors la répéter avec un diluant plus concentré.

Technique.

1. Préparation de l'antigène (79, 41).

Dans 4 cc. de solution de citrate de soude à 5 %, on recueille 40 cc. de sang (sang humain de préférence). On agite, puis on laisse sédimenter pour séparer le plasma. Les hématies sont ensuite lavées à l'eau physiologique. Le culot est transvasé dans un flacon de 1 litre ; on ajoute 720 cc. d'eau distillée. Laisser hémolyser et ensuite verser 80 cc. d'acide chlorhydrique N.

Bien agiter et attendre 48 heures, ajouter ensuite 45 cc. d'eau oxygénée à 12 volumes (taux optimum). Boucher au liège et agiter. Pendant les deux premiers jours, secouer la bouteille deux à trois fois. Parfois on observe un violent dégagement gazeux qui fait

sauter le bouchon. Au bout de six à huit jours, le dégagement gazeux s'étant atténué, ouvrir le flacon ; si le précipité s'est déposé, on recueille le liquide surnageant. Quelquefois, surtout quand les proportions des éléments en réaction ne sont pas bien observées, ou quand l'eau oxygénée n'est pas au titre indiqué, le délai d'attente est à prolonger. Le précipité peut aussi rester en suspension dans le liquide qui est alors traité en totalité comme nous allons l'indiquer.

Le précipité floconneux (ou le liquide tenant en suspension le précipité) est chauffé pendant 20 minutes au bain-marie bouillant. On ajoute alors une quantité de soude N équivalente environ à la moitié de la quantité d'HCl N employée, soit environ 4 cc. pour 100 cc. de suspension. Chauffer encore pendant 10 min., ajouter ensuite prudemment de la soude N par petites quantités jusqu'à formation d'un nouveau précipité. Celui-ci apparaît assez brusquement quand on a versé environ 4 à 6 autres cc. de soude. Il y a là un point critique de la précipitation qui se produit à un pH d'environ 5,6-5,8. On voit donc se former un précipité granuleux rétractile brun foncé, surmonté d'un liquide jaune clair *. Laisser sédimenter. Décanter le liquide surnageant. Laver le précipité. Après centrifugation, siphonner le liquide surnageant. Le précipité humide est dissous dans 160 fois son volume d'a'cool sodé N/100. Le pigment étant acide, on est amené à ajouter ultérieurement de la soude pour activer sa dissolution. On cherchera d'ailleurs à obtenir un produit concentré de teinte très brune, presque noire. On ajoutera donc peu à peu du produit en vérifiant le pH ; le liquide alcoolique est à la vérité une très fine suspension colloïdale. On attend deux ou trois jours en agitant de temps en temps. On laisse sédimenter. Le liquide surnageant est filtré sur plaque filtrante de Schott-léna n° 1. Le liquide foncé est d'ailleurs concentré encore par une évaporation partielle à 50° C. On assure la stabilisation et la conservation en ajoutant pour 100 cc., 2 cc. de phénol à 5 % (antioxydant). Le pH est d'environ 7,6-8. L'opacité propre du réactif en dilution au 1/10 sera de 90 à 100 au photomètre de Vernes (écran vert).

2. Titrage du réactif.

On obtient, après dilution dans un liquide approprié, un réactif d'une teinte brun clair. La dilution à effectuer ne sera pas infé-

* Avec trop de soude on dépasserait la zone de précipitation. Il faudrait alors corriger en ajoutant prudemment de l'acide chlorhydrique dilué.

rieure au 1/20. On devra obtenir un produit présentant au photomètre de Vernes, une opacité propre de 47 à 50 (écran vert). Ce titre approximatif obtenu, il convient de procéder au titrage exact du réactif, c'est-à-dire de préciser le taux optimum de la dilution à effectuer (qui peut varier un peu pour chaque lot de préparation d'hémozoïne concentrée). En utilisant des dilutions voisines (par exemple 1/27, 1/28, 1/29, 1/30), on retiendra le taux de dilution le plus sensible et le plus spécifique après essais sur des sérums normaux et pathologiques. Le réactif titré est conservé en glacière, dans l'obscurité, en petits flacons de 10 cc. en verre brun. Avant dilution, bien agiter le récipient.

2. Dilution de l'antigène.

On prépare les liquides de dilution avec de l'eau bi-distillée. Dans la réaction à l'hémozoïne, les différences de pH ont plus d'influence que dans le procédé à la mélanine ferrique (rôle tampon des liquides mélaniques). La grande dilution du réactif hémozoïque atténue les petites différences de pH que peuvent présenter diverses préparations et le pH final du réactif peut, pour l'emploi, dépendre de beaucoup des liquides de dilution. Ce pH final doit être voisin de 7,7-7,8.

Les liquides choisis renferment par litre :

Solution A. - Chlorure de sodium : 1 gr.

Chlorure d'ammonium : 3 gr. (ce dernier très inhibiteur de l'hydro-sérofloculation - Trenszt).

Eau bi-distillée : 1.000 cc.

Solution B. - Chlorure de sodium : 1 gr.

Chlorure d'ammonium : 4 gr.

Eau bi-distillée : 1.000 cc.

Dans la réaction on utilise la dilution A et une dilution A' préparée en mélangeant 2 vol. de A pour 1 vol. de B. La dilution A' est destinée à diminuer les surfloculations banales qui pourraient fausser la réaction.

Pour diluer l'antigène, il suffit d'ajouter à 1 vol. d'hémozoïne, la quantité de diluant fixée par le titre, soit, pour 1 titre de 1/28, 1 cc. d'hémozoïne concentrée (agiter soigneusement chaque fois avant d'ouvrir le flacon) et 27 cc. de diluant. Agiter le mélange. Le pH final du mélange est convenable (7,7-7,8). La solution-mère étant assez visqueuse, laver la pipette à prélèvement dans le récipient de dilution.

3. Exécution de la réaction.

La verrerie sera l'objet des mêmes soins minutieux que celle qui sert dans la mélanofloculation.

On utilise des tubes à hémolyse de 13,75 où seront répartis réactifs et sérums ; les sérums devront remplir les mêmes conditions que pour la réaction à la mélanine.

Après décantation, effectuer une centrifugation assez poussée. La présence d'hématies trouble la réaction.

La répartition des réactifs est effectuée d'après le tableau suivant (dose d'hémozoïne constante 1 cc., la dose de sérum variant) dans l'ordre indiqué :

N ^o des Tubes	Sérum frais			Sérum frais			Stabilité sérique
	1	2	3	4	5	6	7
Eau distillée							1 cc.
Hémoz. dil. en sol. A. . .	1 cc.	1 cc.		1 cc.	1 cc.		
Hémoz. dil. en sol. A'. . .			1 cc.			1 cc.	
Sérum chauffé 1 h. à 56° C.				0,20 cc.	0,25 cc.		
Sérum frais	0,20 cc.	0,25 cc.	0,30 cc.				0,20 cc.

L'eau distillée, la solution hémozoïque sont introduites à la pipette ou au rhéomètre de Vernes. Les sérums sont distribués à la pipette (commencer par le sérum chauffé) en évitant qu'une trace de sérum frais ne tombe dans les témoins.

Agiter immédiatement les tubes avant de répartir le sérum suivant (très important). Boucher au caoutchouc ou au liège. Mettre à l'étuve à 37° C. pendant 2 h., puis laisser les tubes 20 min. à la température du laboratoire. En été (climat chaud), à la sortie de l'étuve, mettre 15 min. à la glacière puis 10 min. à la température du laboratoire.

4. Lecture.

Les flocons brunâtres sont très fragiles. Prendre chaque tube, le laisser légèrement incliné, bien faire subir une double rotation légère entre le pouce et l'index et incliner davantage le tube, presque à l'horizontale. L'observation peut se faire à la lumière du jour, ou mieux devant une lampe de 60 à 100 bougies, verre non dépoli, sans abat-jour.

Les floculations qui se produiraient dans un délai supérieur à celui indiqué, ne sont pas démonstratives. Un simple trouble n'est pas retenu comme floculation.

5. Interprétation.

La réaction est positive quand les témoins ne floclent pas. Les floculations conjuguées des tubes 1 et 2 avec témoins intacts, indiquent une réaction faiblement ou moyennement positive (+ ou ++). S'il s'y ajoute une floculation du tube 3, la réaction est fortement positive (+++) ou très fortement positive (++++).

Si tous les témoins sont floclés, recommencer la réaction avec une solution plus concentrée en ions salins (en augmentant la proportion de la dilution B).

Ainsi, grâce aux témoins sérums chauffés, où la vraie réaction est supprimée, les causes d'erreurs dues à l'hydrosérofloculation sont évitées.

Dilution du sérum au 1/5 : le tube 7 en cas d'hydrosérofloculation contribue à mesurer l'état hémodyscrasique ou viscéropathique (anatomique ou fonctionnel) du malade en observation. Le test n'est pas spécifique du paludisme et ne saurait remplacer la floculation avec le réactif spécifique.

— Réaction en deux temps.

Dans une épreuve préalable, on mélange :

Hémozoïne diluée.....	1 cc.
Sérum chauffé.....	0,2 cc.

Si après le temps d'étuve on n'a pas de floculation, pratiquer la réaction telle qu'elle a été décrite. Si on observe une floculation, diluer l'hémozoïne avec une solution saline plus concentrée. La réaction en deux temps est peut-être moins avantageuse que pour la technique à la mélanine ferrique (nature des sels de dilutions).

— Microméthode.

Utiliser demi-doses de sérum et demi-doses de réactifs en se contentant de deux tubes dont un témoin.

Valeur attribuée à la réaction.

La signification de cette réaction, est, d'après son inventeur, analogue à celle de la mélanofloculation.

Cette technique est encore trop récente pour avoir inspiré une littérature très abondante. Les jugements qui ont été portés sur elle sont donc loin d'être aussi nombreux que ceux qui ont trait à la réaction à la mélanine ferrique. A notre connaissance les rares travaux dont a fait l'objet la réaction à l'hémozoïne artificielle sont ceux de Darbon, Sohier, Raymond (42), et de Landon (102).

1° Sensibilité.

Landon, en 1949, l'a utilisée 37 fois sur des sujets ayant présenté un accès depuis moins de deux mois. Il a obtenu 23 réactions positives, 2 douteuses, et 13 négatives. Plus de deux mois après le dernier accès, sur 38 cas, on observe encore 12 cas positifs. Comparée avec les données cliniques elle correspond, dans plus de la moitié des positivités, à des rates dépassant souvent de 2, 3 et 5 travers de doigt le rebord costal, les examens étant faits dans les 10 jours qui suivent le dernier accès.

L'auteur trouve à cette réaction une valeur au moins équivalente à celle de la mélanofloculation.

En 10 mois, Darbon, Sohier et Raymond ont effectué 267 séro-floculations à l'hémozoïne sur 224 sujets. Parmi ceux-ci se trouvaient 172 paludéens, dont 139 authentifiés par un examen parasitologique. La positivité de la réaction s'est montrée en accord avec les anamnestiques et les données cliniques dans 97 % des cas de paludisme avéré à dernier accès récent contrôlé, dans 82 % des cas de malaria dont la première infestation était certaine mais dont les derniers accès n'avaient pas été constatés, et pour 61,5 % des sujets dont l'atteinte palustre était vraisemblable mais non confirmée.

2° Spécificité et valeur immunologique.

Bien que précédant, de fort longtemps, la publication de la réaction à l'hémozoïne artificielle, des critiques semblent apportées par Trensztz à cette dernière technique. Si la R.H. est une réaction spécifique antigène-anticorps, l'hémozoïne doit agir mieux que la mélanine choroïdienne. Or, après des injections à des lapins d'hémozoïne extraite du foie et de la rate d'un paludéen, le sérum des animaux inoculés ne flocule pas l'antigène utilisé. L'intradermoréaction pratiquée chez des lapins infestés avec des hématozoaires n'a pas conduit à des résultats très différents de ceux qu'observait Trensztz chez des animaux sains.

Darbon, Sohier et Raymond ont pratiqué la réaction à l'hémozoïne artificielle sur 52 sujets atteints d'affections médicales diverses autres que le paludisme. Ils relèvent 10 réactions positives, soit 19,2 %, parmi lesquels :

6 concernent des malades atteints d'ictère infectieux,

3 concernent des malades atteints d'entérocolite amibienne, mais ayant effectué un séjour en zone d'endémie. Sur deux d'entre eux, on a pu déceler des perturbations humorales importantes (MacLagan, Hanger, B.-W. à type biologique irréductible).

Le dixième sujet était atteint d'une angine à type mononucléose infectieuse, mais avec réaction de Paul et Bunnell négative.

Darbon, Sohier et Raymond proposent, pour ces résultats aberrants, les explications suivantes :

Certaines réactions ont été pratiquées sur des prélèvements effectués au cours même d'un accès. Or, on sait que la réaction est souvent négative dans ces conditions ; elle peut l'être aussi chez des sujets qui ont ingéré, dans les heures qui ont précédé la prise de sang, de la quinine ou un autre antimalarique. Quelques sérums négatifs étaient dans ce cas.

A ces raisons d'ordre technique, les auteurs en ajoutent d'autres qui se situent sur le plan thérapeutique. Les réactions de bon nombre de malades ont été considérées comme discordantes jusqu'au délai de six mois après l'accès ; or une chimiothérapie correcte négative la réaction au bout d'un mois environ. « L'ancienneté de la primo-infestation et de la dernière manifestation clinique conditionnent évidemment beaucoup de réactions négatives ; celles-ci ne sont pas forcément en défaut si l'on songe qu'au bout de trois années, un paludisme évoluant sous nos climats s'est éteint spontanément en dehors de la thérapeutique. Par ailleurs, les conditions actuelles de la chimioprophylaxie modifient sans doute grandement les réactions sérologiques sans pour autant exclure la possibilité de reviviscence schizogonique, et ceci de la même manière que la pénicillothérapie fait disparaître le pouvoir agglutinant du sérum dans les leptospiroses. La réaction à l'hémozoïne traduit l'existence d'anticorps « antipigment palustre », et il est vraisemblable qu'un ou plusieurs accès sont nécessaires pour assurer le « contact humoral », l'élaboration d'anticorps ; la seule présence de formes exo-érythrocytaires plasmodiales n'y suffit pas. Notons enfin qu'une partie de nos statistiques a été cons-

truite sur de simples allégations, et que les malades candidats à pension exagéraient la fréquence de leurs accès palustres. Aussi les résultats de notre enquête effectuée sur cette catégorie de sujets sont-ils assez éloignés de ceux qu'ont fourni les malades hospitalisés et suivis ».

Darbon, Sohier et Raymond admettent cependant l'existence d'un certain nombre de réactions franchement aberrantes. L'hépatite épidémique est la principale cause d'erreurs. Dans 10 cas, elle a positivé à tort la réaction à l'hémozoïne. De même, la cirrhose et tous les autres états où l'équilibre humoral semble également bouleversé leur ont paru quelquefois constituer la source de positivités illégitimes.

Dans l'ensemble cependant, la nouvelle réaction apparaît très satisfaisante aux auteurs tant par la simplicité de son exécution que par les résultats qu'elle permet d'obtenir.

3. RÉACTION A L'HÉMOZOÏNE MÉLANIQUE

Justifications et conditions de la réaction.

Si l'utilisation conjuguée de la mélanofloculation et de la réaction à l'hémozoïne artificielle s'est avérée profitable, il n'en reste pas moins qu'elle complique, dit Henry (84), la tâche des laboratoires de biologie non spécialisés. D'autre part la quantité de sérum disponible est souvent réduite, car il faut en réserver souvent à d'autres examens.

Henry a donc réuni depuis un certain temps la mélanine ferrique et l'hémozoïne artificielle dans un même réactif conservant les avantages de chacun. « L'hémozoïne artificielle peut être très proche du vrai pigment palustre. La mélanine ferrique a montré sa fidélité. Même avant l'addition de sels de fer (glycérophosphate), la mélanofloculation était déjà appréciée. On pouvait penser que par son groupement aminé, elle avait quelque parenté avec l'hémozoïne.

La mélanine ferrique a rendu d'utiles services dans le diagnostic et pour le contrôle du traitement dans de nombreux cas où l'hématozoaire ne pouvait être décelé... ». Par ailleurs, « elle a l'avantage de s'opposer dans une certaine mesure à la surfloculance banale ». Cette propriété due à son pouvoir de dispersion a été admise par Greig et coll. (64) et par Trenszt (177) (in 86), et légitime sa présence dans le nouveau réactif.

Technique.

I. Préparation de l'antigène.

Il comporte 4/5 d'hémozoïne artificielle et 1/5 de mélanine solubilisée.

a) préparation de l'hémozoïne.

L'hémozoïne est préparée comme il est indiqué dans le chapitre précédent.

b) solubilisation de la mélanine.

1° Procédé à l'antiformine.

La mélanine solubilisée que recommande Henry est obtenue d'après le procédé décrit en 1935. Le pigment insoluble de choïde de bœuf est débarrassée du liquide qui le tient en suspension. Le culot de centrifugation est lavé deux fois à l'eau distillée sans l'agiter dans l'eau. On l'additionne ensuite de 30 fois son volume d'antiformine à 20 %. On porte au bain-marie bouillant pendant 20 min.

Abandonner le mélange pendant 12 à 15 h. Porter de nouveau au bain-marie bouillant pendant 20 min. On laisse reposer, on décante le liquide noir surnageant par siphonage. On peut laisser sédimenter en opérant avec un flacon assez étroit et haut. L'addition d'alcool facilite la sédimentation. Le liquide noir obtenu est neutralisé avec l'acide sulfurique N/12 ; on s'aperçoit qu'au moment de la neutralisation au tournesol le produit reste parfaitement en solution. En continuant à ajouter de l'acide sulfurique, on obtient une précipitation de la mélanine qui se dépose au fond du récipient.

Après avoir débarrassé le précipité du liquide acide surnageant on le place dans de gros tubes à centrifuger ; on le lave deux fois (sans agiter) à l'eau distillée. Le dépôt est ensuite dissous dans de l'eau très légèrement alcaline au tournesol, en chauffant au besoin au bain-marie. Si le liquide n'est pas complètement limpide, le laisser reposer, et l'on peut centrifuger. On ajoute du glycérophosphate de fer dans les proportions indiquées page 31.

Henry (86) a depuis apporté quelques modifications portant sur la concentration de l'antiformine qui est à 15 % au lieu de 20 %, et sur la neutralisation qu'il effectue avec de l'acide sulfurique N/6 et qu'il complète, si besoin est, avec de l'acide per-

chlorique à 10 % (qui est très maniable). Par ce procédé, la solubilisation est très rapide.

2° Solubilisation par la soude.

C'est la méthode de Trenszt. Nous la donnons telle que l'a décrite Mannoni.

Dix yeux frais de bœufs sont utilisés pour un litre de solution sodée : on broie les membranes choroïdes sur un tamis mécanique fin, en ayant soin d'ajouter au magma de petites quantités d'eau distillée pour faciliter le passage des grains.

On obtient une suspension que l'on filtre sur une couche de tarlatane doublée d'une mince couche de coton hydrophile. On se débarrasse ainsi des quelques particules membraneuses qui auraient pu traverser le tamis. Le filtrat est centrifugé : le culot est repris dans une solution de soude N/10 et placé à 40° C. pendant trois jours. On agite le mélange une fois par jour. Au bout de trois jours, on procède à la première précipitation avec la quantité d'acide chlorhydrique nécessaire pour amener le pigment à la précipitation. On centrifuge.

On reprend le culot par la soude N/10, comme pour la première opération, et on laisse à 40° C. pendant deux jours.

On opère une deuxième précipitation par l'acide chlorhydrique : on ne verse que la quantité minima d'acide.

On centrifuge de nouveau, et le dernier culot est repris dans une très petite quantité d'eau distillée, de façon à avoir une solution mère très concentrée.

On neutralise cette solution mère par de la soude, ajoutée goutte à goutte jusqu'à virage du papier de tournesol. Amené à neutralité exacte, le pigment se dissout complètement en quelques heures à la température du laboratoire. On centrifuge ensuite la solution mère de façon à se débarrasser des membranes choroïdes qui auraient pu être entraînées.

Diluée au 1/10, la solution mère doit conduire à une densité optique de 73 au photomètre de Vernes (écran vert).

Henry, en 1953, a modifié légèrement ce mode de préparation en abaissant la concentration sodique à N/15 (au lieu de N/10) en première solubilisation, et à N/20 dans les solubilisations suivantes. Il neutralise l'alcalinité, non avec de l'acide chlorhydrique mais avec de l'acide perchlorique à 10 %.

3° Solubilisation par un acide (Greig, Van Rooyen et Hendry (64).

25 g. de cheveux humains noirs sont brassés dans 100 cc. d'acide chlorhydrique à 50 % en volume pendant 5 à 6 h. L'hydrolysate brun est filtré sur papier ; puis on le débarrasse des acides volatils par trois distillations sous vide. On ajoute de l'eau chaque fois que le résidu devient pâteux. L'acide chlorhydrique résiduel et une partie considérable des amino-acides présents dans le liquide sont éliminés par dialyse pendant 6 à 10 h. Le liquide obtenu après dialyse est neutralisé par la soude à 10 % jusqu'à réaction légèrement alcaline au tournesol.

On filtre. On répartit la solution brune limpide en flacons que l'on stérilise au bain-marie bouillant pendant 20 à 30 min.

Le titre optimum du réactif est de 4 à 8 unités mélaniques. Cette unité d'après Greig et coll. est celle qui correspond colorimétriquement, après dilution de la solution mère, à une solution d'alun de fer à 10 %.

4° Mélanines artificielles.

On peut utiliser la mélanine à la tyrosine ou à la dopa.

Pour préparer la mélanine à la tyrosine (Villain et Dupoux) :

1) Dans un ballon très sec, on introduit successivement :

Tyrosine Poulenc.	0,30 g.
Perchlorure de fer (solution officinale).	0,40 cc.
Eau oxygénée 12 vol.	10 cc.
Eau distillée.	10 cc.

Boucher au coton. On agite vigoureusement jusqu'à dissolution complète. Celle-ci est assez rapide et s'accompagne d'un dégagement de chaleur et de bulles gazeuses. On laissera la réaction se poursuivre 15 minutes.

2) On porte ensuite à l'ébullition, qui devra être modérée. On la maintiendra pendant 1 min. A ce moment, la solution devient de plus en plus noire et opaque.

3) On verse le contenu dans un ballon de 250 cc. dans lequel on aura préalablement réparti 180 cc. d'eau distillée (préalablement bouillie et non refroidie). On procède alors à une nouvelle ébullition qui durera 3 min.

4) Refroidir rapidement le ballon sous un courant d'eau; laisser reposer une demi-heure, puis ajouter 3,2 cc. de soude N.

La soude dissout complètement le dépôt noir qui s'est formé.

Laisser reposer pendant 12 h. à la température du laboratoire.

Filtrer sur papier mouillé à l'eau distillée. Le filtrat noirâtre, très foncé, mais limpide, débarrassé de toute impureté, constitue la mélanine artificielle. Répartir le liquide dans des flacons bien bouchés, que l'on maintient à l'obscurité sans qu'il soit besoin d'avoir recours à une glacière.

Pour être mélangées à l'hémozoïne, ces mélanines devront, diluées au 1/10, présenter une densité optique de 90 à 100 au photomètre de Vernes (écran vert) : « C'est cette opacité qu'il faudra réaliser. On devra au besoin précipiter une mélanine soluble (par un acide ou un alcalin selon le cas) pour redissoudre dans une minime quantité d'eau légèrement alcaline (si besoin est, chauffage à 42° C.) agiter deux ou trois jours et filtrer. C'est ainsi qu'opère Henry pour les mélanines peu foncées, celle de Greig, celle de Villain, et celle préparée avec la dopa. Pour les autres mélanines, on peut évaporer à l'étuve à 52° C. On assure la conservation par addition de phénol dans la proportion de 1 pour 300.

Quant au choix de la mélanine, les préférences de Henry vont à la mélanine choroïdienne ou à celle du sarcome de cheval. Les autres sont moins favorables. Henry les utilise cependant en les additionnant en petites quantités à la mélanine d'œil.

c) Préparation du mélange hémozoïne-mélanine.

Après avoir additionné 1/5 de mélanine soluble de 4/5 d'hémozoïne, on attend une vingtaine de jours pour mesurer la densité optique du mélange. Une dilution au 1/10 en chlorure d'ammonium à 3,25 pour 1000 devra donner un chiffre de 93 à 96 au photomètre de Vernes (écran vert). Au-dessous de 93, on peut concentrer par évaporation. Au-dessus de 96, il est facile de diluer le réactif.

2. Titrage du réactif.

Il s'effectue comme pour les réactions à la mélanine ferrique ou à l'hémozoïne artificielle.

Henry a complété son réactif par un tampon destiné à maintenir l'antigène dilué à un pH favorable à la réaction (environ 7,2). Dans la dilution d'usage pour la réaction, ce tampon dilué au 1/100 ne gêne en rien, et normalise, d'après Henry, le milieu par rapport à divers sérums de pH différent.

On répartit en petits flacons de 10 cc. que l'on conserve en glacière.

3. Dilution de l'antigène.

Le liquide de dilution est préparé cette fois avec du chlorure d'ammonium à 3,25 pour 1000 sans l'association du chlorure de sodium. La solution devra être neutralisée comme il est dit pour la réaction à l'hémozoïne artificielle.

La solution-mère d'hémozoïne mélanique est diluée dans la solution de chlorure d'ammonium, après agitation du flacon, selon les proportions indiquées par le titre.

Les autres conditions de préparation des réactifs sont les mêmes que celles que l'on observe pour la réaction à l'hémozoïne simple.

4. Exécution de la réaction.

Elle peut être conduite exactement comme la réaction à l'hémozoïne artificielle. Henry donne le protocole simplifié suivant :

Trois tubes :

Dans le tube de réaction :

1 cc. de réactif dilué,

0,25 cc. de sérum frais.

Dans le tube témoin-sérum :

1 cc. de réactif dilué,

0,25 cc. de sérum chauffé.

Dans le tube de stabilité sérique :

1 cc. d'eau distillée,

0,20 cc. de sérum frais.

Les précautions concernant le matériel, le sérum, et la lecture sont dans cette réaction à trois tubes analogues à celles qui ont été adoptées pour la séroflocculation à l'hémozoïne seule : la réaction n'est valable que si, le tube de réaction étant flocculé, le tube témoin-sérum chauffé ne l'est pas. En cas de flocculation de ce dernier (exceptionnel, affirme Henry, avec le dispositif actuel), il faudra recommencer la réaction avec une dilution saline plus concentrée, par exemple 4 à 6 p. 1000. La flocculation se manifeste par des grumeaux plus ou moins volumineux de faible consistance. Ne pas secouer le tube, et observer la lumière. Les grumeaux peuvent être complètement déposés : réaction fortement positive

(+++). On peut observer des flocons en suspension et un culot partiel : réaction moyenne (++) . On peut constater des petits flocons distincts en suspension : réaction légère nette (+). Les réactions visibles à la loupe seulement sont douteuses ($\pm$). En l'absence de toute floculation la réaction est complètement négative. Les réactions trop tardives ne sont pas démonstratives. Ne pas trop attendre pour la lecture.

La technique photométrique reste à l'étude.

La micro-réaction s'effectue dans de petits tubes de 8 mm. de diamètre avec 0,4 cc. de réactif et 0,1 de sérum.

Valeur de la réaction.

L'interprétation, les applications, sont les mêmes pour Henry que celles qu'il a exposées dans ses précédentes réactions.

Si la littérature est pauvre qui a trait à la méthode à l'hémozoïne artificielle, elle est inexistante à notre connaissance au sujet de la réaction à l'hémozoïne mélanique.

Au point de vue immunologique, l'argumentation des apologistes et des détracteurs de la mélanofloculation peut être dans sa majeure partie reproduite. Reconnaissons cependant que la présence de l'hémozoïne artificielle dans le nouveau réactif désarmerait probablement certaines des critiques qui visent l'origine du pigment utilisé comme antigène.

Mais il est certain que des auteurs comme Chorine, opposeraient des expériences du genre de celles de Trensztz que nous citions à propos de la réaction à l'hémozoïne artificielle, ou de Dulaney et Morrison. On peut, disent ces auteurs, séparer des extraits parasitaires le pigment, sans diminuer la sensibilité ou la spécificité de la réaction de déviation du complément que les chercheurs américains ont mise au point.

Nous ne prendrons pas pour l'instant parti, nous bornant à constater que ce genre d'objections ne concerne pas directement la R.H., et que, si paradoxal que le fait puisse paraître, l'hémozoïne artificielle de Henry peut — sérologiquement du moins — se montrer plus spécifique qu'un antigène naturel tel que la mélanine palustre elle-même. Il n'est pas difficile de trouver des références : dans le diagnostic sérologique de la syphilis, le choix du foie de fœtus hérédosyphilitique semblait sans appel, et cependant c'est bien l'extrait du cœur de bœuf qui a légitimement prévalu dans la pratique.

Les R.H. forment, en somme, un bloc.

Sur le plan technique, les points suivants peuvent être détaillés :

1° L'antigène est constitué soit par de la mélanine ferrique (provenant de la choroïde de bœuf), soit par de l'hémozoïne artificielle (extraite de l'hémoglobine hydrolysée), soit par le mélange des deux réactifs (réaction à l'hémozoïne mélanique).

Le propre de ces antigènes, dans l'esprit de Henry, est de se rapprocher le plus possible du pigment palustre naturel.

2° Les réactions ont lieu en présence d'ions salins qui ont pour but de diminuer les phénomènes de surfloculance banale.

3° Un témoin-sérum est réalisé avec du sérum chauffé; le chauffage annulant la réaction et n'altérant pas la floculance banale, on peut ainsi éviter d'interpréter comme une réaction positive une simple surfloculance.

Dans l'appréciation de la R.H., la quasi-unanimité des auteurs accorde aux techniques de Henry une sensibilité très satisfaisante. Quant à sa spécificité les avis sont assez partagés. Il semble ressortir de la littérature qu'un certain nombre d'affections comme la syphilis, la cirrhose, et surtout l'hépatite épidémique entraînent les R.H. à des erreurs par excès.

La valeur immunologique des R.H. est également contestée, notamment par Chorine, qui refuse aux réactifs de Henry un autre rôle que celui d'index de floculabilité.

Henry présente la défense de ses réactions dans son intervention au Congrès International d'Istanbul. Nous avons exposé ses arguments et les discuterons dans un autre chapitre.

RÉACTIONS SECONDAIRES

Elles sont légion, et on peut assez arbitrairement les classer en deux groupes : celles qui utilisent un réactif présentant une certaine parenté — au moins intentionnelle — avec la mélanine ferrique, et celles qui n'ont — et ne veulent avoir — rien de commun soit avec l'antigène de Henry, soit avec la théorie immunologique de cet auteur.

Réaction de Vilkki.

Nous n'avons pas cité dans le chapitre précédent, des techniques extrêmement voisines de celles de Henry, ce'ui-ci s'opposant assez justement à ce que l'on couvre de son nom des méthodes qui ne répondent pas exactement aux caractéristiques qu'il exige. C'est seulement à ce titre que nous faisons figurer la réaction de Vilkki (184) dans l'étude des réactions secondaires, car elle n'entre pas exactement dans le premier groupe et encore moins dans le second. Vilkki lui-même lui laisse le nom de réaction de Henry. A vrai dire, les différences ne sont pas essentielles.

L'antigène est identique.

Diluant salin : après avoir expérimenté toute une gamme de sels différents (fluorure, chlorure, bromure, iodure de sodium ; chlorures de potassium, d'ammonium, de calcium, de magnésium, et de lithium, citrate, sulfate de sodium) à des dilutions variables, avec des sérums étalons de paludéens et de non-paludéens, Vilkki retient le chlorure de sodium comme étant celui qui est capable à la molarité la plus faible d'inhiber la surfloculance, et de donner les réactions les plus fortes et les plus spécifiques. Les concentrations salines les plus favorables lui paraissent être 1 et 2,5 pour 1.000.

Procédant à des essais analogues pour la dilution de l'antigène, il s'arrête aux titres de 1/10 et de 1/20.

Le meilleur moment pour exécuter la réaction se situe, d'après lui, entre la trentième et la cinquantième heure après le prélèvement.

1. Exécution de la réaction.

On dispose 6 tubes à hémolyse, dans lesquels on verse 0,1 cc. de sérum frais, puis on ajoute :

- Dans le tube n° 1 : 0,5 cc. de dilution antigénique au 1/10 dans du chlorure de sodium à 1 p. 1.000.
n° 2 : 0,5 cc. de dilution antigénique au 1/20 avec du chlorure de sodium à 1 p. 1.000.
n° 3 : 0,5 cc. de dilution antigénique au 1/10 avec du chlorure de sodium à 2,5 p. 1.000.
n° 4 : 0,5 cc. de dilution antigénique au 1/20 avec du chlorure de sodium à 2,5 p. 1.000.
n° 5 : 0,5 cc. de chlorure de sodium à 1 p. 1.000 sans antigène.
n° 6 : 0,5 cc. de chlorure de sodium à 2,5 p. 1.000 sans antigène.

Les quatre premiers tubes permettent, d'après Vilki, une lecture grossièrement quantitative. La réaction est fortement positive quand 1, 2, 3 et 4 présentent une floculation, moyennement positive quand les trois premiers tubes sont flêculés, faiblement positive quand seulement 1 et 2 sont flêculés, douteuse quand il y a floculation uniquement dans le premier tube, négative quand aucune floculation ne peut être observée dans les quatre tubes. 5 et 6 servent de témoins, et ne doivent présenter aucune floculation pour que les phénomènes observés dans les autres tubes soient significatifs.

2. Valeur de la réaction.

Tous les résultats de Vilki que nous avons rapportés plus haut (p. 37) ont été obtenus avec ce protocole opératoire. On peut objecter valemment que la R.H. proprement dite aurait conduit à des résultats peut-être différents.

Il n'en reste pas moins que la sensibilité de cette technique approche beaucoup celle de la réaction originale de Henry. La spécificité qu'elle montre serait plutôt supérieure à celle

qu'attestent les techniques des autres auteurs, qui elles aussi sont souvent des variantes de la R.H.

Si l'on peut regretter que Vilkki n'ait pas confronté sa technique personnelle avec celle de Henry, il est indéniable que, entre les mains de son auteur, elle a permis de mener à bien un très important travail dont nous avons donné un aperçu.

TECHNIQUE DU PREMIER GROUPE

A) Réactions avec mélanines solubilisées.

1. Réaction de Greig, Van Rooyen et Hendry (64).

1° Description de la technique.

— L'antigène est préparé comme il est indiqué p. 57.

— Technique :

Dans 10 tubes à hémolyse on introduit 0,4 cc. d'eau distillée. Dans le tube 1 : 0,4 cc. de sérum. Au rhéomètre, on prélève 0,4 cc. du tube 1 qu'on reporte dans le tube 2, ainsi de suite jusqu'au tube 9 dont on enlève 0,4 cc. qu'on jette. On ajoute 0,4 cc. d'antigène dans tous les tubes. On obtient ainsi des dilutions allant de 1/4 à 1/1024.

Au bout de 5 h. d'étuve à 37° C., on lit les résultats : un tube est positif quand il présente une agglutination fine et granulaire.

2° Interprétation.

On constate en général dans la fièvre bénigne les taux de 1/32 à 1/228.

Dans la malaria d'inoculation, la réaction apparaît 4-5 jours après l'infestation, et reste positive quelque temps avant l'apparition des parasites dans le sang périphérique ; le titre augmente ensuite, devient maximum (1/150) au moment de l'acmé. Après le traitement spécifique, il diminue pour s'élever à nouveau quand la thérapeutique a été interrompue prématurément.

3° Valeur de la réaction.

« Belle méthode, un peu compliquée », juge Henry (86).

Mais en diluant le sérum à ce point, on risque des réactions d'instabilité sérique malgré les ions salins du liquide de dilution.

C'est peut-être là, suppose Henry, l'explication d'erreurs qui nous furent signalées dans l'emploi de cette méthode. L'absence de témoin-sérum dans la réaction est d'autant plus regrettable.

2. Réaction de Trens.

1° Description de la technique :

— Préparation de l'antigène (voir p. 56).

— Pratique de la réaction :

0,25 cc. de sérum dans deux tubes. Dans le premier (témoin), on ajoute 1 cc. de solution de chlorure d'ammonium à 3 p. 1.000. Dans le deuxième (réaction) on verse 1 cc. de solution-mère diluée extemporanément au 1/10 dans le chlorure d'ammonium à 3 p. 1.000 1 h. à 37° C.

2° Valeur de la réaction :

Henry la juge comme une des meilleures techniques de remplacement. La présence de chlorure d'ammonium lui paraît particulièrement judicieuse, au point qu'il a fait bénéficier ses nouvelles réactions à l'hémozoïne artificielle et à l'hémozoïne mélanique de ce nouveau dispositif, dont nous avons plus haut décrit l'intérêt qu'y attache le savant Constantinois.

3. Réaction de Lourteau (117).

1° Description de la technique :

3 cc. de solution de mélanine soluble préparée suivant la technique à l'antiformine de Henry, mais titrant 23 d'opacité propre au photomètre de Vernes, sont versés dans un tube (réaction). On évapore à l'étuve à 37° C. jusqu'à siccité. Puis on introduit 1,5 cc. de sérum frais. On agite pour dissoudre la mélanine desséchée. On lit aussitôt la densité optique, et à nouveau après un séjour de 1 h. 30 à l'étuve.

La différence entre les deux lectures est supérieure à 15 pour les sérums de paludéens.

2° Signification.

Lourteau a essayé d'éliminer les éléments non spécifiques que certains ont prétendu déterminants dans la R.H.

B) Réactions avec mélanines artificielles.

1. Réaction de Villain et Dupoux.

1° Description de la technique (185) :

— Préparation de l'antigène (voir p. 57).

— Technique :

Dans deux tubes on introduit 1 cc. de mélanine diluée au 1/5 dans du chlorure d'ammonium à 4,5 p. 1.000 neutralisé (pH 7-7,2).

Dans le premier tube (réaction) on ajoute 0.2 cc. d'une dilution au 1/10 de sérum frais dans le chlorure d'ammonium à 4,5 pour 1.000. Dans le deuxième tube, 0,2 d'une dilution de sérum chauffé effectuée dans les mêmes conditions.

On laisse 3 h. les tubes à une température comprise entre 22° et 37° C.

On effectue la lecture.

— Lecture :

Suivant que le culot est très important ou inexistant sans granulation, la réaction est fortement positive ou négative. Tous les termes intermédiaires peuvent naturellement s'observer.

Au cas où le témoin présenterait une floculation, on recommencerait la réaction en utilisant une solution de chlorure d'ammonium à 9 au lieu de 4,5 p. 1.000.

2° Signification.

Villain et Dupoux, après trois ans d'expérience, estiment que les mélanines sont les meilleurs détecteurs sérologiques de la malaria, mais que leur réaction amène des résultats équivalents à ceux que permet d'obtenir la R.H.

TECHNIQUES DU DEUXIÈME GROUPE

1. Réaction de Livierato, Vagliano et Kokaraki (112).

On utilise le muscle cardiaque de mouton que l'on mélange avec 6 fois son volume d'eau distillée. On stérilise. On filtre sur gaze. On ajoute 1 cc. de formol à 200 cc. de filtrat. On stocke au frigorifique.

On se sert pour la réaction de la dilution au 1/10.

2. Réaction de Proske et Watson (139).

La R.H. n'étant due qu'à l'augmentation de la fraction euglobulinique du sérum de paludéen, on doit obtenir les mêmes indications en déterminant celle-ci, pensent les auteurs, qui dosent la tyrosine par la réaction de Folin. Ils constatent un taux de 80 à 280 (au lieu de 50 à 80 chez les sujets normaux) dans 97,4 % des cas de malaria.

Ce test, d'après eux, n'est pas plus spécifique que la R.H. mais a sur celle-ci les avantages de la sensibilité et de la simplicité.

Par contre Wartman et Shlimovitz (191) trouvent un index tyrosine normal chez 40 % des paludéens ayant quitté la région contaminée, alors même qu'ils présentaient des parasites dans le sang périphérique.

Dans plusieurs cas d'hépatite épidémique, le taux de tyrosine s'élève.

3. Réaction de Pikoul et Osipova (137).

D'après ces auteurs, les suspensions mélaniques utilisées dans la R.H. sont difficiles à standardiser ; par ailleurs la R.H. est souvent positive chez des malades non paludéens, chez les femmes enceintes, et quelquefois chez des gens sains.

La mélanine peut être avantageusement remplacée par une solution de 0,05 % de chlorhydrate de quinine. On obtient, affirment les auteurs, moins de réactions non spécifiques.

De nombreux indicateurs, tels que l'acridine, l'antimoine, le carmin, la quinine, peuvent être utilisés de la même façon, ce qui tend à prouver que la R.H. n'est pas une réaction d'immunité.

4. On a proposé bien d'autres indicateurs de l'hyperglobulinémie palustre : des émulsions microbiennes (Prudhomme, in 85), des colorants tels que le bleu de méthylène, le rouge de méthyle

(Greig, in 85), le carmin (Pikoul et Osipova, 137) (Prudhomme, in 85), etc...

La réaction au carmin de Prudhomme utilise une suspension de 0,5 g. de carmin, dans 25 cc. d'eau distillée. On emploie une dilution de réactif telle que son indice optique soit de 30 au photomètre de Vernes.

Cette dernière technique a été vivement recommandée par Chorine, et Henry (85) estime que c'est le moins mauvais des produits de substitution de la mélanine.

5. Réaction de Wolff (Buffer-précipitation-test — B.P.T.).

1) Principe :

On apprécie la floculation du sérum de paudéen en eau légèrement tamponnée. Dans les mêmes conditions, les sérums normaux ne présentent aucun louchissement.

2) Technique :

Dans deux tubes, on introduit de l'eau distillée tamponnée (dilution au 1/100 de la solution de Sörensen) de façon à obtenir les pH de 7 et 7,4. On ajoute 2 gouttes de sérum dans chaque tube. La positivité est plus ou moins forte suivant le degré d'opacification.

3) Interprétation :

Bogen (21) a expérimenté cette technique légèrement modifiée (pH 7,7) sur 3.000 sérums et la juge très satisfaisante. La réaction est d'autant plus nette que le paludisme est plus récent et plus manifeste ; elle s'affaiblit au bout de quelques mois.

Schmid et Chapman (in 85) la comparent à la R.H. : les sérums de 5 lapins ayant reçu respectivement des injections de sérum de porc, de cheval, de bœuf, d'homme, de vaccin TAB, ont donné une mélanofloculation positive et un B.P.T. négatif. D'autre part, sur 115 sérums humains agglutinant les TAB ou le Proteus, 58 furent positifs à la mélanofloculation, un seul au B.P.T., 57 furent négatifs avec les deux réactions. D'après Schmid et Chapman le B.P.T. possède donc une spécificité au moins égale à celle de la R.H.

6. Réaction d'Akashi et So (in 85).

Elle utilise de l'eau distillée alcaline et formolée.

7. Réaction de Le Bourdelles et Mauvais (108).

Le témoin est représenté par un mélange sérum-eau physiologique.

1) Technique :

Dans un tube (réaction) on introduit 0,2 cc. de sérum et 1,8 cc. d'eau distillée. Dans un autre tube (témoin) 0,2 cc. de sérum et 1,8 cc. d'eau physiologique. On lit au bout d'une demi-heure d'étuve à 37° C., au photomètre (écran rouge). On déduit l'indice optique du témoin de celui du tube-réaction. Résultats négatifs au-dessous de 12, douteux entre 12 et 20, positifs à 20 et au-dessus.

2) Signification :

Le Bourdelles et Mauvais n'ont pas eu la prétention, avec cette technique, d'apporter autre chose qu'une modification technique avantageuse de la réaction de Chorine à l'eau distillée dont nous allons parler plus longuement. Nous ne nous attarderons donc pas plus longtemps sur la méthode de Le Bourdelles. Nous nous contenterons seulement de signaler qu'elle a rendu à ses auteurs de grands services et qu'elle possède, de l'avis unanime, une valeur au moins égale à la méthode de Chorine.

8. Réaction de Chorine.

1) Principe :

Tirant parti d'une constatation de Klaussner, d'après laquelle certains sérums s'opacifiaient quand on les diluait dans l'eau distillée, Chorine tenta l'expérience chez des paludéens évolutifs.

2) Technique :

Elle est extrêmement simple : on pratique la réaction en double, on ajoute rapidement 0,2 cc. de sérum à 1,8 cc. d'eau distillée. On lit immédiatement au photomètre l'indice optique. Après un séjour de 3 à 4 h. à l'étuve à 37° C., puis de 20 min. à la température du laboratoire, on opère une deuxième lecture comme précédemment.

3) Interprétation :

La différence entre les deux chiffres, le premier étant considéré comme témoin, est supérieure à 25 quand la réaction est positive, et inférieure à 10 en cas de négativité. Au-dessus de 100, il s'agit très probablement d'un kala-azar.

Valeur de ces réactions :

Elle sera jugée très différemment suivant que ses utilisateurs seront ou non convaincus du caractère purement physico-chimique de la R.H.

A) Marchoux et Chorine (122) estiment que pour le diagnostic du paludisme, il n'existe que deux critères, la découverte du parasite dans le sang et la présence de pigment dans les histiocytes. En dehors d'eux, tous les autres moyens ne constituent au mieux, que des signes de probabilité : parmi les plus importants, la réaction de Henry ou celle de Chorine. Toutes deux procèdent du même mécanisme, nullement humoral. Et s'il faut reconnaître que la réaction à la mélanine est rarement négative dans le paludisme, on ne peut nier qu'elle présente, en dehors de cette affection, une non-spécificité de 6 à 8 %. La mesure de la floculation en eau distillée, aussi sensible et plus précise permet d'abaisser le taux des réactions négatives. Elle est donc plus avantageuse que la R.H. par sa simplicité d'exécution, par sa sensibilité et par son même degré de spécificité.

Une technique rigoureuse permet de déceler la présence de l'infection avant même le premier accès. La positivité disparaît après la guérison.

Le mécanisme de la réaction tient tout entier à la labilité considérable que présente, d'après Chorine les sérums de paludéens et de certains autres malades (syphilis, tuberculose, kala-azar, etc.).

La cause de cette labilité réside en l'augmentation du taux des euglobulines ou dans le rapport de ces protéines avec les albumines. La réaction à l'eau distillée présente un parallélisme étroit avec la R.H. et leur concordance clinique confirme leur concordance physico-chimique.

C'est dans cet esprit que Chorine recommande de substituer à la mélanine, dans la R.H., les divers réactifs que nous avons cités. Ceux qui ont suivi cette voie ont naturellement, à l'égard de la technique de Chorine, la même opinion que ces derniers : Prudhomme, Wolff, Schmid et Chapman, Le Bourdelles et Mauvais, Pikoul et Osipowa.

B) Critique de ces techniques.

1. Sur la spécificité.

Henry (76) convient très volontiers que le phénomène de l'hydrosérofloculation, qui est à la base de la réaction de Chorine et de ses variantes, est dépourvu de spécificité.

Ce phénomène a été, dès l'origine, observé par l'auteur qui, à côté de sa réaction, ménage toujours un tube de dilution en eau distillée comme test viscéropathique fonctionnel ou lésionnel, utile certes, mais indépendant de la signature proprement palustre. Ceci explique que dans le kala-azar, la cirrhose, la leucémie, la tuberculose, la syphilis, et toutes les autres affections où intervient un déséquilibre protidique, l'hydrosérofloculation peut se manifester.

Alors que dans les splénomégalias¹ paludéennes, la mélanofloculation qui était négative dans presque toutes les hémopathies, atteignait les chiffres les plus élevés, « la floculation à l'eau distillée n'a pas suivi la réaction à la mélanine et a présenté les taux les plus élevés dans les cirrhoses du foie et les splénomégalias syphilitiques » (Weil, in 85). Thilliard (172) sur 492 réactions relève 92 erreurs commises par la réaction de Chorine.

2. Sur la sensibilité.

Même dans le paludisme, sa sensibilité est souvent en défaut. « De jeunes soldats venus de France en Algérie et récemment impaludés, ne présentaient pas de floculation en eau distillée, mais une forte floculation à la mélanine ». D'autre part, « absente ou trop tardive chez les sujets récemment impaludés, elle manque plus tard de spécificité (85).

Elle n'offre pour Landon (102) qu'un pourcentage de 20 % de positivité au moment et dans les dix jours qui suivent l'accès pour devenir pratiquement toujours négative ensuite. « L'empirisme essentiel de cette réaction et sa positivité limitée ne la recommandent pas à l'étude du paludisme ».

Nous avons étudié dans ce chapitre des réactions très diverses.

La réaction de Vilki se détache très nettement des autres. Elle s'apparente étroitement à la R.H., dont elle ne diffère que par des détails techniques, dont le plus important est l'absence d'un témoin-sérum chauffé ; cette lacune est compensée en partie par l'emploi de deux diluants salins au chlorure de sodium (à 1 et 2,5 p. 1.000) et de deux suspensions antigéniques respectivement au 1/10 et au 1/100. Parmi les autres R.S., nous avons vu que certaines présentent encore beaucoup de points communs avec la R.H. : la réaction de Greig, dont la mélanine est extraite du cheveu humain, la technique de Trenszt qui utilise la mélanine choroï-

dienne solubilisée en milieu sodique. La mélanine artificielle de Villain et Dupoux à la tyrosine s'écarte déjà beaucoup du réactif classique de Henry.

Les techniques du deuxième groupe se fondent toutes sur l'hyperglobulinémie qui accompagne souvent le paludisme.

Le type de ces réactions est la réaction de Chorine qui objective la labilité du sérum dans l'eau distillée.

Chorine lui-même ne reconnaît à sa réaction aucune spécificité. Henry s'accorde avec lui sur ce point, en interdisant toutefois vivement à Chorine et à ses partisans d'assimiler à ce phénomène banal d'hydrosérofloculation les R.H., qui, dit-il, dans les résultats qu'elles permettent d'obtenir et dans les mécanismes dont elles procèdent apparaissent fondamentalement distinctes.

Aussi n'avons-nous sacrifié qu'à l'usage en inscrivant les méthodes à l'eau distillée dans le chapitre des réactions palustres. Leur essence les aurait destinées logiquement à figurer dans les réactions de labilité plasmatique.

AUTRES MÉTHODES D'EXPLORATION BIOLOGIQUE DANS LE PALUDISME

« La notion d'une atteinte hépatique au cours du paludisme est aussi ancienne que notre connaissance de cette maladie », rappelle Schneider (159), qui a particulièrement contribué avec Fauvert et Hartmann à dégager et à préciser cette notion. Il faut, en effet, mettre à part « l'hépatisme » du paludisme ancien « chronique », où des facteurs associés jouent un rôle important qu'il est difficile de séparer de la malaria dans l'étiologie de l'atteinte hépatique.

Au contraire, dans le paludisme aigu récent, il semble, après les travaux des auteurs déjà cités et ceux que nous verrons dans ce chapitre, que l'hépatite palustre révèle à peu près le même aspect biologique que toutes les autres hépatites du type mononucléose infectieuse, ictère épidémique, leptospirose ou cirrhose à certains stades, hépatites dont Fauvert et Hartmann (54, 55, 56, 57, 58, 65, 67) ont magistralement dessiné le tableau humoral.

Toutes les épreuves proposées pour tester les perturbations qui composent ce tableau sont donc valables dans le paludisme, même si les auteurs n'ont pas toujours eu conscience de la vocation hépatique des tests qu'ils utilisaient dans cette parasitose.

On pourra — un peu schématiquement — les voir polarisées sur l'un ou l'autre des deux facteurs : atteinte cellulaire du foie et irritation du S.R.E. intra- et extra-hépatique.

I. Epreuves cellulaires

Elles sont fondées sur l'aptitude que possède le foie de synthétiser certaines protéines : albumines, fibrinogène, prothrombine, proconvertine, et sur la détermination indirecte de certaines enzymes produites par le parenchyme hépatique.

A) Réactions sérologiques.

La réaction de Takata et Ara, ancêtre de la réaction de Gros, dépend comme elle de l'hypoalbuminémie.

La synthèse des albumines sériques étant sous la dépendance du parenchyme hépatique, ces réactions représenteront donc un reflet assez fidèle de l'insuffisance cellulaire (en l'absence de fuite albumineuse dans les urines bien entendu).

B) Méthodes chimiques.

1) Pour les mêmes raisons, la détermination des albumines par la méthode pondérale de Mâcheboeuf par l'électrophorèse en veine liquide ou sur papier, par relargage selon les méthodes de Roche et Derrien (45, 151bis) donneront des indications analogues.

Evidemment, en l'absence de variations opposées des globulines, l'hypoprotidémie renseignera dans une certaine mesure.

2) La capacité de synthèse du fibrinogène peut être mesurée par les dosages chimiques classiques ou par l'électrophorèse.

3) Un équilibre est normalement maintenu dans le sérum entre le cholestérol estérifié et le cholestérol total grâce à l'action continue de deux réactions couplées faisant intervenir une lécithase, une estérase spécifique (Lebreton et Pantaéon, in 161). La détermination du rapport cholestérolique permet d'évaluer cette activité enzymatique, dont les variations les plus sensibles se répercuteront d'abord sur la fraction estérifiée.

4) En l'absence d'ictère, l'élimination de la bromsulfonephthaléine montre la capacité excrétoire de la cellule polygonale. C'est un test sensible (Fauvert, 55). Mais on ne peut dissocier du facteur parenchymateux le rôle du mésenchyme dans l'élimination de la B.S.P. (Walter, 190).

5) Mentionnons enfin les épreuves qui explorent les fonctions antitoxiques et glucidiques du foie : hippuricurie et galactosurie, hyperglycémie provoquées, et la fonction enzymatique (mesure des cholinestérase, pseudocholinestérase, procaïnestérase, etc...).

C) Méthodes hématologiques.

La mesure du temps de Quick permet de suivre grossièrement les variations de la prothrombinémie.

Une épreuve beaucoup plus sensible, d'après Fauvert, Schneider et Hartmann (161), est représentée par l'évaluation de la proconvertine.

2. Epreuves « mésenchymateuses »

A) Méthodes sérologiques.

On s'est vite rendu compte que le S.R.E. était le véritable responsable de la positivité de la plupart des tests de labilité plasmatique.

1) La réaction de Hanger à la céphanine-cholestérol traduit les variations des γ euglobulines. C'est celle qui revient le plus vite à la normale.

2) Les réactions de Kunkel aux sulfates de cuivre ou de zinc exprimeraient les mêmes modifications (Varay et Frantz, Demeulanaere et Wieme, in 190), ainsi que la réaction de formolgélification quoique d'une façon peu sensible.

3) La positivité de la réaction de MacLagan au thymol correspond, soit à l'augmentation des γ euglobulines, soit à celle des cénapses lipido- β euglobuliniques, soit à l'association de ces deux phénomènes.

D'après Fauvert et Hartmann (58), la réaction se déclenche pour des pourcentages de β supérieurs à 20 et de γ supérieurs à 15.

La clarification que l'on observe parfois 18 h. environ après la lecture opacimétrique revêt un grand intérêt pour Neeffe et Barbier (131). Elle marque la nature anormale d'une globuline beaucoup plus que l'élévation d'une globuline qualitativement normale (Fauvert et Hartmann). Dans les hépatites, les β mais surtout les γ présentent une augmentation. Les variations inverses du cholestérol mettent l'accent sur le rôle de ces complexes protidolipidiques dont la signification est du reste mal connue.

4) La réaction de Wuhrmann et Wunderly au sulfate de cadmium, traduit pour ses auteurs (197, 198) l'élévation des γ et surtout des α globulines, pour Paget (134) l'hyperglobulinémie quelle que soit sa nature. Pour Benhamou et Polonovski (14), elle est influencée par les γ globulines, le taux de l'albumine, la somme $\alpha + \beta$ globulines, et même par d'autres constituants protidiques.

Dans la réaction de Weltmann au chlorure de calcium, l'allongement de la bande signerait l'augmentation des γ , le rétrécissement, celle des α et des β (Ardry) (5) et la seule élévation des α d'après Fauvert (56).

5) La réaction de Vernes à la résorcine et la vitesse de sédimentation dépendent des α globulines, et secondairement des β , des γ et surtout du fibrinogène (Benhamou et Polonovski, 14).

6) « La réaction à l'eau distillée relève surtout des β globulines, et accessoirement des γ ; les lipides comme dans le thymol-test y jouent aussi un rôle important » (Walter, 190).

B) Méthodes chimiques.

1) L'électrophorèse donne une vue d'ensemble des variations protéiniques dont nous venons de parler. Les modifications des β et des γ globulines seront les plus révélatrices de la stimulation du S.R.E. (Hartmann et Fauvert, 67).

2) Le dosage du cholestérol total, dans les cas où est respectée l'intégrité du parenchyme hépatique, peut renseigner sur les altérations mésenchymateuses, car le métabolisme de ce lipide est probablement sous la dépendance du S.R.E., et sa synthèse serait assurée par ce même système (Delaville, 44).

La ponction-biopsie du foie montre évidemment d'une façon directe les deux types de modification histologique. Quelquefois la biopsie donnera la preuve formelle de l'existence de ces altérations alors que les autres moyens d'exploration seront restés muets.

On ne doit, en effet, pas oublier, insiste Fauvert (55), que si l'insuffisance clinique du foie ne se manifeste que lorsque 9/10 de ce viscère sont mis hors de fonction, il faut encore que la moitié du foie soit atteinte pour que les examens biologiques autres que ceux qui relèvent de l'anatomie pathologique, expriment l'agression hépatique.

En général, dans celle que réalisent les hépatites et en particulier l'hépatite palustre, l'atteinte cellulaire, plus labile, précède l'inflammation mésenchymateuse. C'est ainsi, par exemple, que, dans les premiers jours de la maladie, on peut observer une hypoalbuminémie (Fauvert, 54). Par contre, l'hyperglobulinémie qui apparaît tout de suite après, ne s'effacera que beaucoup plus tard. La convalescence pourra se caractériser par une ascension des albumines, et une diminution des globulines au-dessous de la normale*.

RÉACTIONS DE LABILITÉ PLASMATIQUE

Dans la majorité des cas de paludisme, les tests hépatiques montrent un écart par rapport à la normale (Wahi et Arora, 188).

1. Réaction de Takata et Ara.

En 1937, Volavsek (187) la mettait en parallèle avec la mélanofloculation; il constatait que lorsque celle-ci était fortement positive, le Takata l'était aussi.

Ou (133), en 1940, dans 20 cas de paludisme d'inoculation, obtient des réponses positives chez 90 % des sujets : 26 % après les rechutes, et 68,8 % dans le paludisme chronique en l'absence de traitement. Il conclut d'une façon un peu surprenante que la réaction ne paraît pas en relation avec l'atteinte hépatique.

Elle n'a donné sur 42 cas que 8 réponses positives, soit 19 %, à Landon (102), pour qui elle ne semble devoir être conservée que pour l'étude des malades porteurs d'une sévère atteinte du foie.

Fuhrmann et Harten (61) l'ont utilisée pour déterminer la part qui revient à l'élément hépatique dans différentes formes cliniques de la malaria.

* Il est bien évident que ce ne sont pas là toutes les épreuves biologiques utilisables dans l'exploration hépatique. Nous n'avons pas envisagé la fonction biliaire (d'ailleurs curieusement intacte dans le paludisme (Fauvert, Schneider et coll.), ni les fonctions glucidique, soufrée, martiale, etc... (ni certains aspects des fonctions que nous avons citées), qu'il n'entre pas dans notre propos d'étudier ici.

2. Réaction de Gros.

Faiblement et rarement positive (Bénazet, 10) (4 fois sur 12 cas de paludisme de reviviscence), elle se négative très vite (en une semaine).

Quand elle doit être positive elle le devient presque tout de suite, en même temps que le Hanger (Schneider et Hartmann, 161).

3. Réaction de Hanger.

Bronstein et Reid, Lebon et Fabregoule (63) Lippincot et coll. (110) mais surtout Makari (120) l'étudient dans le paludisme. Ce dernier auteur la pratique chez 105 paludéens, qu'il répartit en trois groupes :

Premier Groupe. — 92 paludéens authentiques dont les premières manifestations remontaient à trois semaines :

80 présentaient une réaction à +++.

3 présentaient une réaction à +.

Sur les 9 réactions négatives, 4 correspondaient à une parasitologie également négative, mais 5 appartenaient à des malades dont le sang périphérique montrait des hématozoaires (4 à *P. falciparum* - 1 à *P. vivax*).

Deuxième Groupe. — Sur 13 malades chez qui on voulait observer les effets du traitement :

12 avaient un Hanger à ++ à leur entrée, tombant à + ou à 0 après traitement. Dans un seul cas, la réaction se maintenait à +++ même après disparition des symptômes cliniques.

Troisième Groupe. — 90 individus sans affection palustre ni hépatite apparente présentaient une réaction négative.

D'après Makari, la positivité est d'autant plus forte que l'infection a été courte et que la période des accès remonte à peu de mois.

Pour cet auteur, le mécanisme est le suivant : la mise en liberté des protéines provenant de la désintégration des globules rouges parasités déclenche une réaction analogue à celle de l'injection des protéines étrangères ; il en résulte un engorgement, une prolifération et une mobilisation des cellules réticulo-endothéliales. Plus le S.R.E. a été stimulé, plus il est lent à revenir à son état

normal. On peut dès lors considérer ce test comme l'indice de l'atteinte réticulo-endothéliale. C'est pourquoi il demeurera positif chez des sujets résidant dans une région d'endémicité et qu'il deviendra peu à peu négatif quand ils quitteront cette zone.

L.A. Schneider et Shallenberger (162) ont pratiqué, après la chute de la température, un certain nombre de tests d'exploration hépatique, dont le céphaline-cholestérol-test, qui s'est révélé dans presque tous les cas positif.

M. Ranque (143) trouve également la réaction positive dans le paludisme.

T. Bertrand-Fontaine, Fauvert, J. Schneider et Hartmann signalent que, précocement, à partir du cinquième ou du sixième accès, on observe toujours une réaction positive qui disparaît au bout de 3 à 5 semaines en général, au plus tard 2 mois 1/2 après la fin de la période des accès, de toute façon après tous les autres tests de labilité plasmatique.

Landon (102), effectuant la réaction dans les 10 jours qui suivent le dernier accès, relève 4 cas négatifs seulement sur 17, et sur 30 cas, plus de deux mois après le dernier accès, encore 8 positivities.

Bénazet (12), dans 13 cas de paludisme dont 12 de reviviscence et un paludisme viscéral évolutif, trouve la réaction positive 10 fois sur 13. Celle-ci s'éteint en 20 jours, la dernière des T.H.

4. Réaction à l'or colloïdal.

Cette réaction qui se place comme le Hanger parmi les tests utilisant les suspensions colloïdales électro-négatives (Hartmann) a été exploitée dans la malaria, à notre connaissance, seulement par Carter et MacLagan, sur 35 paludéens à *P. vivax*. Ces auteurs ont obtenu 33 réactions positives.

5. Réaction de Weltmann.

Kleeberg et Birnbaum (96) trouvent dans 66 cas de paludisme (sur 96) une coagulabilité augmentée.

Fuhrmann et Harten (61) l'ont employée concurremment avec les réactions de Takata-Ara et de MacLagan pour tester l'atteinte hépatique dans le paludisme, atteinte qui, d'après eux, semble réversible.

6. Réaction de Wuhrmann et Wunderly.

Landon (102) sur 27 cas de paludisme de reviviscence n'a obtenu que 2 résultats positifs et 6 douteux.

7. Réaction de Kunkel.

Elle a montré une floculation dans 5 cas sur 23, dont 3 avec des chiffres supérieurs à 200 (Landon).

8. Réaction de Maclagan.

28 réactions sur 35 effectuées chez des paludéens (paludisme aigu) se sont avérées positives (Carter et Maclagan, 25).

Sohier, Grégoire, Violette et Poirier (166) ont systématiquement effectué la réaction au thymol au cours de nombreux cas de paludisme et d'amibiase. Chez 22 paludéens présentant des manifestations de paludisme évolutives, 16 réactions étaient nettement positives.

Dans aucun des cas étudiés par M. Ranque (143), l'indice optique du Maclagan ne descendait au-dessous de 67 unités Vernes.

T. Bertrand-Fontaine, Fauvert, Schneider et Hartmann (5, 17, 159, 160, 161) estiment que, dans le paludisme de reviviscence et d'inoculation, le thymol-test se positive au bout de 5 à 6 accès un peu après le Hanger, et que, après s'être élevé progressivement, il s'abaisse un mois après l'accès pour être inférieur à 30 au bout de 5 semaines environ, généralement avant l'extinction du Hanger.

Bénazet observe 8 positivités sur 13 cas. La positivité maximale se situe très près de l'accès, puis le retour à la normale est très rapide.

Dans le paludisme de reviviscence, la lecture des résultats de la réaction au thymol, montre à Landon une positivité de 40 % au moment de l'accès ; au delà de cette période, le test devient rapidement négatif dans la grande majorité des cas : on ne trouve plus que 7 % de positivités dans les examens pratiqués plus de deux mois après le dernier accès.

MÉTHODES CHIMIQUES

Il est difficile de les dissocier des tests sérologiques de labilité plasmatique, car elles peuvent témoigner des mêmes aspects de l'insuffisance hépatique palustre.

1. Test de tolérance au lévulose.

Sinton et Hughes (164 bis), Williams (194) ont utilisé ce test dans le paludisme. Williams estime qu'il permet de déceler et de mesurer d'une façon satisfaisante les perturbations hépatiques que provoque l'agression palustre. Tous les paralytiques généraux traités par la malariathérapie présentèrent des tests anormaux accusant une insuffisance hépatique à des degrés divers.

2. Hippuricurie et galactosurie provoquées.

La synthèse de l'acide hippurique et la tolérance au galactose sont abaissées dans le paludisme de rechute.

La galactosurie redevient normale de 4 à 52 semaines après l'accès.

Lippincot, Ellerbrook, Hesselbrock, Gordon, Gottlieb et Marble (110), L.A. Schneider et Shallenberger (162), à la fin de l'accès, trouvent le test à l'acide hippurique positif dans la majorité des cas.

3. Test à la bromsulfonephtaléine.

Les mêmes auteurs ont également expérimenté ce test très sensible.

Lippincot et coll. (110) mesurent une rétention après 45 minutes de 4 % dans 49 cas examinés trois jours après l'accès, et de 3 % dans les 149 cas étudiés 2 à 24 semaines après ce dernier.

4. Détermination de la cholinestérase.

Sur 52 individus sains, Mechall, Rodier et Mallet (126) fixent un taux normal moyen de 3,86 unités. Chez 80 % de paludéens, ce taux s'abaisse au-dessous de 3,86, et chez 60 %, au-dessous de 2,5. La chute de la cholinestérase est d'autant plus considérable que les accès se prolongent et se répètent.

5. Dosage des pigments et des sels biliaires dans le sang et dans l'urine.

Pour Williams (194), l'urobiline et l'urobilinogène urinaires sont augmentés dans le paludisme d'inoculation aux paralytiques généraux. Presque tous ces malades présentèrent un ictère conjonctival à la fin de la malariathérapie.

Lebon et Fabregoule (103) signalent une augmentation de la bilirubinémie totale, mais surtout de la bilirubinémie indirecte.

Par contre, Schneider et Hartmann (160) n'observent aucune modification de la cholémie et de la cholalémie.

Landon (102) n'accorde pas beaucoup d'intérêt à la bilirubinémie dont les variations sont ininterprétables.

6. Cholestérolémie.

Si le taux du cholestérol semble assez stable à Landon qui n'en tire d'ailleurs pas de règle générale, son abaissement est pour T. Bertrand-Fontaine, Fauvert, Schneider et Hartmann (17, 160) un indice précis et sensible de l'insuffisance cellulaire du foie.

C'est toujours après le cinquième ou le sixième accès que s'amorce la chute de la cholestérolémie. Le retour à la normale s'effectue en même temps que celui des T.H.

Mais c'est surtout le rapport cholestérol estérifié/cholestérol total, qui intéresse Schneider et Hartmann (161). On voit dans 70 cas de paludisme d'inoculation chez des paralytiques généraux que la fraction estérifiée s'effondre littéralement de 1,4 à 0,34 et le rapport cholestérolique de 0,70 à 0,30. Les mouvements de ce dernier se produisent à peu près en même temps que ceux du Maclagan.

Quand l'atteinte cellulaire est faible, c'est le cholestérol estérifié qui réagit seul. Dans les insuffisances hépatiques plus marquées, le cholestérol libre se joint aux variations de la fraction estérifiée, de sorte que le cholestérol total se trouve lui-même abaissé.

Lebon et Fabregoule (103) considèrent le fléchissement du cholestérol, et surtout du cholestérol estérifié comme le signe humoral le plus constant du paludisme aigu ou chronique, mais non le plus spécifique, car il s'observe à la phase aiguë de nombreuses maladies infectieuses.

7. Nous passerons rapidement sur les variations d'un certain nombre de critères chimiques, qui sont exposés d'une façon détaillée par ces derniers auteurs : l'azotémie en général est normale, sauf dans la parasitose à *P. falciparum* ; il n'y a hypoglycémie qu'au cours des accès pernicieux, hypercalcémie, hyperkaliémie (par destruction globulaire), hypomagnésémie, augmentation de la concentration moléculaire du sérum, qu'au moment des accès ; hypochlorémie qu'en cas de néphrite. L'uricémie est élevée.

8. Détermination des protides sanguins.

a) Méthodes indirectes.

La détermination de la tyrosine (Proske et Watson, 139 ; Wartman et Shlimovitz, 191) revient à l'appréciation des euglobulines. Mais les déductions diagnostiques ne sont pas les mêmes suivant les auteurs. Proske et Watson constatent un taux nettement supérieur à la normale dans 97,4 % de malaria connue, alors que Wartman et Shlimowitz chez des paludéens examinés trois mois après leur départ de la région contaminée, n'observent que 60 % de tyrosinémies élevées.

b) Méthodes directes.

L.A. Schneider et Shallenberger (162), Benhamou et Gille (13) séparent dans le sérum des paludéens, les albumines des euglobulines.

Le rapport euglobulines/albumines + cholestérol est de 0,1 à 0,3, d'après Benhamou au lieu de 0,01 à 0,05 dans les sérums normaux.

De même T. Bertrand-Fontaine et coll. (17) observent dans 39 cas de paludisme aigu, au bout du cinquième ou du sixième accès, une diminution des albumines sériques et une élévation des globulines. Ces variations s'estompent sous l'effet du traitement.

Wozonig (196) détermine la teneur en protéines du L.C.R. ; elle est de 1,5 au moins supérieure à la normale. Le coefficient globuline/albumine est inférieur à la normale par suite de la diminution des globulines et de l'augmentation des albumines. Il se rétablit 20 jours après l'accès.

L'électrophorèse a permis à un certain nombre d'auteurs de préciser certains points importants sur la perturbation humorale créée par l'hépatite palustre :

Swynghedauw, Le Bourdelles et Masse (169) ont confronté dans la malariathérapie les diagrammes électrophorétiques obtenus avant et après impaludation. Celle-ci n'entraîne pas de modifications notables du diagramme.

Dole et Emerson (47) ont effectué l'électrophorèse du plasma de 8 malades : le taux des protéines totales est normal, à cause de la compensation de l'hypoalbuminémie par l'hyperglobulinémie (sauf dans un cas où l'hypoalbuminémie était particulièrement marquée). Les fractions les plus augmentées sont le fibrinogène et les γ globulines. Deux malades suivis plus longtemps montrent le

retour à la normale de la composition du plasma malgré l'infection persistante. Les auteurs américains concluent que les altérations électrophorétiques n'ont pas de valeur diagnostique ; cependant la concentration en protéines totales et le rapport albumines/globulines peuvent aider à mesurer la gravité de la maladie.

Jansen (91) conclut aussi à l'augmentation des γ globulines dans le paludisme.

Fauvert, Schneider et Hartmann (54, 58, 160), utilisant concurremment l'électrophorèse en veine liquide et l'électrochromatographie sur papier chez des paralytiques généraux impaludés, considèrent que l'hypoalbuminémie révèle une altération parenchymateuse qui lui est proportionnelle ; l'élévation des β et surtout des γ globulines atteste l'atteinte mésenchymateuse.

MODIFICATIONS HÉMATOLOGIQUES

1° Prothrombinémie.

L.A. Schneider et Shallenberger (162) J. Schneider et Hartmann (161) mesurent le temps de Quick dans la malaria.

Ces derniers auteurs, chez 70 paralytiques généraux impaludés mettent en évidence une hypoprothrombinémie en relation avec l'insuffisance cellulaire du foie provoquée par l'infestation palustre.

2° Proconvertinémie.

Mais, mesurant parallèlement l'abaissement de la proconvertine, ils considèrent que la détermination de ce facteur de la coagulation sanguine, représente un test plus précis et beaucoup plus sensible de l'altération du parenchyme hépatique.

MODIFICATIONS HISTOLOGIQUES

Nous passerons rapidement sur ce sujet qui a inspiré la thèse de Chastel (31) à laquelle nous renvoyons le lecteur.

Nous indiquerons seulement que les lésions cirrhotiques (Haspel, Lancereaux), constatées à l'autopsie de paludéens, et considérées

comme classiques, ont été peu à peu imputées à une autre étiologie que la malaria. Le rôle des facteurs diététiques et éthyliques est apparu déterminant.

La ponction-biopsie intervenant sur des sujets de tous âges, y compris des paludéens jeunes, a fourni des renseignements plus valables que ceux que permettait l'autopsie pratiquée chez des malades morts à la suite d'une évolution déjà longue, malades chez qui les facteurs cirrhogènes extra-palustres peuvent s'additionner et même se potentialiser.

Parmi les derniers partisans de la cirrhose palustre, Massias et Hao (123) et Chauffard invoquent, soit une splénomégalie cirrhogène, soit une transformation de la réticulo-histiocytose en fibro-réticulose spléno-hépatique. Mais ces auteurs, de même que Mil-liau (128), amenuisent le rôle du paludisme en tant que facteur cirrhogène déterminant. La plupart des cas décrits comme relevant de la cirrhose « palustre », affirme Dao Van Ty (40), résumant l'opinion de la majorité des histologistes, ne doivent reconnaître au paludisme qu'une influence adjuvante, les autres composantes de la cirrhose se partageant principalement entre l'alcoolisme, la syphilis, la tuberculose, les maladies parasitaires et l'hypoprotéinémie.

La ponction-biopsie du foie, pratiquée systématiquement par Bénazet, Sohier, Plauchu et Chastel (12, 138) sur des Français paludéens rapatriés de zone d'endémie, leur révèle quatre types histologiques :

1° Foie normal. .

2° Hyperplasie kûpfférienne simple ou modérée.

3° Hyperplasie kûpfférienne avec surcharge discrète en pigments malariques (**P. vivax**).

4° Hyperplasie kûpfférienne avec tatouage pigmentaire (**P. falciparum**).

Les lésions histologiques ne sont probablement pas définitives et n'ont pas été retrouvées par les auteurs au delà de deux ans après la dernière manifestation clinique palustre.

Telcharov et M. Todorova (171) avec la même méthode d'exploration, parviennent à des conclusions différentes. Le mécanisme de l'accès est le suivant : les sporozoïtes ayant envahi les histiocytes hépatiques, les schizontes libérés ensuite par les histio-

cytes détruits passent dans les hématies, et le parenchyme hépatique lui-même peut être envahi. Les récides s'expliqueraient par une schizogonie larvée dans les histiocytes et une schizogonie focale dans les sinusoides.

Ces agressions se soldent, dans le cas d'un paludisme « primaire », par des altérations mésenchymateuses (avec tendance marquée à la fibrose) et parenchymateuses (diminution de la teneur en glycogène, rétention de pigments biliaires et ferriques, mais non mélaniques) ; dans le paludisme chronique ou récidivant (où il est difficile, reconnaissent les auteurs, de faire la part véritable qui revient au paludisme), l'évolution conjonctive conduit à une précirrhose palustre. L'atteinte cellulaire se manifeste par des lésions hypotrophiques et dégénératives et une infiltration lipoïde.

T. Bertrand-Fontaine, Schneider, Fauvert et Hartmann (17) dans le paludisme de primo-invasion, notent d'abord une perturbation fonctionnelle plus qu'une hépatite au sens anatomique du mot, mais mettent ensuite en évidence l'hyperplasie kuppérienne qui marque l'atteinte mésenchymateuse. Dans le paludisme ancien, l'évolution vers la cirrhose est rare, mais il se constitue souvent, à l'aide d'autres facteurs étiologiques, une hépatite chronique, conduisant à la formation d'un foie dur et gros, fréquemment accompagnée de splénomégalie et dont la stase vasculaire, l'hyperplasie, et la pigmentation sont les principaux caractères histologiques.

Ces différents travaux font donc dans l'ensemble ressortir l'atteinte mésenchymateuse que provoque sur le tissu hépatique l'agression palustre, et il faut vraisemblablement avec Bénazet refuser à la malaria toute influence sclérogène.

COMPARAISON DES DIVERS TESTS D'EXPLORATION BIOLOGIQUES

Il a semblé intéressant à d'assez nombreux auteurs de mettre en parallèle, dans l'étude du paludisme, les diverses méthodes biologiques d'exploration que nous avons décrites dans les chapitres précédents.

A. — Les réactions palustres entre elles

Les séroréactions de Henry entre elles.

Mélanofloculation et réaction à l'hémozoïne artificielle :

Landon (102) au moment de l'accès obtient 17 réponses positives sur 28 (60 %) avec la mélanofloculation, et 13 sur 17 (76 %) avec la réaction à l'hémozoïne.

Moins de deux mois après l'accès, la sensibilité comparée des deux R.H. donne les résultats suivants :

Mélanofloculation ...	111 cas	59 +	(53 %)
Mémozoïne	37 cas	23 +	(60 %)

Plus de deux mois après le dernier accès :

Mélanofloculation ...	63 cas	15 +	(24 %)
Hémozoïne	38 cas	12 +	(32 %)

La sensibilité de la réaction à l'hémozoïne apparaît donc supérieure à celle dont jouit la mélanofloculation.

Séroréactions de Henry et réactions secondaires.

L'examen critique de ces réactions, étudié dans les chapitres qui leur sont respectivement consacrés, nous autorise à ne pas nous attarder longuement.

En règle générale, chaque inventeur d'une R.S. expérimentant parallèlement à la R.H. sa propre technique, lui a trouvé une valeur au moins équivalente à la mélanofloculation, et estime que leur spécificité et leur signification clinique et physico-chimique sont

identiques, et qu'elles possèdent les avantages d'une sensibilité et d'une simplicité plus grandes.

Contentons-nous de citer dans les réactions à l'eau distillée les techniques au carmin (Prudhomme), au chlorhydrate de quinine (Pikoul et Osipova), le buffer-précipitation-test (Bogen, Schmid et Chapman), la détermination de la tyrosinémie (Proske et Watson), les réactions de Le Bourdelles et Mauvais et de Chorine.

Ce dernier sur 66 paludéens examinés en dehors de l'accès trouve sa réaction nettement positive 60 fois, faiblement positive ou douteuse 6 fois ; avec la mélanofloculation, il obtient 64 positivités.

Vaucel et Hoang Tich Try sur 539 sérums de paludéens avérés, comptent 85,23 % de réponses positives avec la R.H. et 87,54 % avec la réaction de Chorine et 72,76 % avec la réaction de Trenz.

En dehors du paludisme, pour un lot de sujets syphilitiques, la R.H. se montre aux mêmes auteurs non spécifique dans 45,90 % des cas, la réaction de Trenz dans 53,48 %, tandis que la réaction de Chorine n'atteint que 23 %. Mais une autre catégorie de syphilitiques (à B.-W. négatif) conduit aux statistiques suivantes : R.H. 23,90 %, réaction de Chorine 33 %. La réaction de Trenz triomphe avec 17 % seulement de résultats aberrants.

Chorine (in 85) exploite une expérience de Prudhomme pour démontrer le parallélisme qui existerait entre les réactions de floculation dans l'eau distillée et la R.H. Cette expérience est la suivante : le précipité provenant de la dilution au 1/5 d'un sérum dans l'eau distillée est repris dans de l'eau physiologique et mis en contact avec le réactif de Henry. La floculation que l'on observe montre bien, dit Chorine, que la R.H. revient à mesurer le déséquilibre protidique de la même façon que l'apprécie la réaction de Chorine.

Les partisans de la R.H. opposent des statistiques et bien entendu des arguments de toute autre nature.

Sur 492 réactions la technique de Chorine a donné à Thilliard 92 erreurs, la R.H. une seule.

Les courbes de floculation et de surfloculation établies par Trenz (176) au cours de l'évolution du paludisme n'offrent pas de parallélisme.

De même Meersseman, Lafuma et Thilliard (128) observent des mélanofloculations en eau salée dont la courbe est totalement

indépendante de la surfloculance sérique (en l'absence de mélanine) en eau salée également.

Landon, pour des examens pratiqués entre le deuxième et le dixième jour après l'accès, compte 60 % de R.H. positives et 20 % de Chorine positives ; de 10 jours à 2 mois, 41 % de R.H. positives et 2 % de Chorine positives ; plus de 2 mois après l'accès, 24 % de R.H. positives et 1 % de Chorine positives.

Les deux réactions offrent leur maximum de positivité de 2 à 10 jours après le premier accès de reviviscence, mais leur sensibilité n'est pas du tout du même ordre de grandeur.

B. — Les réactions palustres et les autres moyens d'exploration

I. Réactions palustres et tests de labilité plasmatique.

1° R.H. et T.H.

Volavsek (187), après avoir reconnu que la R.H. apparaît entre le troisième et le sixième accès et se montre toujours positive, ajoute que lorsque la réaction est forte, le Takata-Ara est positif aussi, ce qui prouve, d'après lui, que la labilité du sérum est responsable de toutes ces floculations.

Ou (133) observe un parallélisme entre la réaction de Takata-Ara et la R.H. dans les cas chroniques, mais non dans le paludisme aigu.

Landon (102), sur 100 cas pris au hasard de ces observations, note :

pour 32 mélanofloculations négatives :

25 thymol —, 7 thymol +,

2 Hanger —, 2 Hanger +.

pour 68 mélanofloculations positives :

45 thymol —, 23 thymol,

2 Hanger —, 2 Hanger +.

c'est-à-dire entre la mélanofloculation et les T.H. :

Mélano et MacLagan : 48 concordances, 52 divergences.

Mélano et Hanger : 10 concordances, 5 divergences.

En prenant la réaction à l'hémozoïne comme référence, il trouve :

Sur 30 réactions à l'hémozoïne, 29 réactions au thymol, 23 réactions à la céphaline cholestérol :

pour 9 hémozoïne — : 5 thymol — et 3 +,
6 Hanger — et 1 +.
pour 2 hémozoïne ± : 2 thymol —,
1 Hanger —.
pour 19 hémozoïne + : 9 thymol — et 10 +,
4 Hanger — et 11 +.

La réaction de Takata-Ara comme la réaction de Chorine, ne paraissent avoir d'intérêt que dans les atteintes hépatiques et suivent encore moins que les réactions de Macagan et de Hanger, les variations des R.H.

Les conclusions de Landon sont les suivantes :

— La réaction au thymol se négative beaucoup plus rapidement que la réaction à la mélanine ferrique, qui reste encore le témoin pendant assez longtemps, de la modification humorale. L'absence de parallélisme entre la R.H. et le test de Hanger est moins frappante.

— La positivité des réactions de Henry, de MacLagan, et de Hanger semble, en gros, suivre des variations de même sens mais d'amplitude différente. Si la réaction à la mélanine ferrique est un test d'insuffisance hépatique, on ne peut du moins la comparer à la réaction de MacLagan.

2° Réactions secondaires et tests de labilité plasmatique.

Kleeberg et Birnbaum (96), dans 96 cas de paludisme, observent une concordance entre les réactions de Weltmann et de Chorine. Toutes deux attestent l'atteinte hépatique qui se manifeste par une stimulation de la synthèse globulinique intra-hépatique.

2. Réactions palustres et méthodes chimiques.

Les modifications du cholestérol et de la bilirubine sont, d'après Landon, d'amplitude trop faible et trop anarchique pour permettre des comparaisons avec les autres méthodes d'exploration biologique. Swynghedauw et coll. (169) ont effectué hydrosérofloculation et électrophorèse parallèlement sur le sérum de 20 paludéens dont 8 avant et après impaludation. La comparaison des diagrammes n'a montré aucune modification appréciable de leur forme, même chez les sujets qui présentaient l'hydrosérofloculation la plus massive de leur sérum.

C. — Les autres moyens d'exploration entre eux

1. Les tests de labilité plasmatique entre eux.

Fuhrmann et Harten (61) estiment que les trois tests de Takata, Weltmann et Maclagan objectivent une atteinte hépatique surtout manifeste dans le paludisme récent, atteinte d'ailleurs réversible.

Carter et Maclagan (25) utilisent concurremment le thymol-test et la réaction à l'or colloïdal. C'est ce dernier qui s'avère le plus sensible.

T. Bertrand-Fontaine et coll. (17) observent toujours après le cinquième ou le sixième accès, Maclagan et Hanger positifs. Le Hanger est à la fois le plus précoce et le plus tenace des deux.

Landon (102) attribue plus de sensibilité au céphaline-cholestérol-test qu'à la réaction de Maclagan. Le premier donne 70 % de réponses positives moins de deux mois après le dernier accès et 27 % plus de deux mois après ; le thymol-test a une positivité maxima de 51 % au moment de l'accès et dans les 10 jours qui suivent le dernier accès de reviviscence ; cette positivité décroît rapidement à 7 % ensuite.

Bénazet (10, 11), dans 13 cas de paludisme évolutif, estime également que le Hanger est plus sensible (12 fois positif sur 13) que le Maclagan, et surtout que le Gros (4 fois sur 13). Les deux premiers tests se négativent à peu près en même temps (au bout de 15 à 20 jours) alors que le troisième est très fugace (moins d'une semaine).

2. Les tests de labilité plasmatiques et les autres méthodes.

Bénazet (11) compare ces résultats avec la ponction-biopsie du foie. Il note que la positivité du Gros correspond chez le paludéen à une altération parenchymateuse labile comme elle-même ; au contraire, le Maclagan et le Hanger coïncident presque toujours avec une mésenchymatose.

Benhamou et Gille (13) relient les réactions de floculation et de gélification aux modifications protidiques des sérums de paludéens. L'augmentation des euglobulines et leur rapport avec les albumines et le cholestérol dénotent une instabilité sérique qui est à la base de ces réactions.

Schneider, Fauvert et Hartmann (160, 54) insistent sur la simultanéité d'apparition des T.H. et des modifications chimiques : c'est toujours vers les cinquième ou sixième accès que le Hanger, le Gros et le Maclagan deviennent brusquement positifs (le Maclagan un peu après les autres). On voit les β et surtout les γ globulines s'élever, tandis que le cholestérol estérifié s'effondre (à peu près en même temps que le Maclagan), suivi un peu plus tard de la fraction libre. Dès la mise en œuvre du traitement, commence le retour à la normale de toutes ces épreuves ; il est complet un mois seulement après la cessation des accès.

« On ne peut qu'être frappé de la similitude qui existe entre l'évolution des épreuves fonctionnelles hépatiques au cours du paludisme et des hépatites ictérigènes, mise à part l'intégrité assez curieuse des fonctions pigmentaire et cholalique que nous avons constatée dans nos cas de paludisme » (Fauvert).

Les tests de labilité plasmatique et l'électrophorégramme traduisent la poussée inflammatoire mésoenchymateuse. Pour exprimer l'insuffisance cellulaire, Schneider et Hartmann (161) ont étudié le rapport cholestérolique et les troubles de la coagulation sanguine. C'est l'abaissement de la fraction estérifiée du cholestérol et de la proconvertine qui s'avère être le signe le plus précis et le plus fidèle.

Si l'on fait abstraction des R.H., c'est donc toujours d'après les mêmes critères que concorderont ou divergeront les différents tests d'exploration mis à la disposition des auteurs dans l'étude du paludisme. De l'atteinte mésoenchymateuse dépendant de l'augmentation des β et des γ globulines, la perturbation des réactions de Maclagan et de Hanger ; l'atteinte cellulaire conditionne les troubles de la coagulation, l'hypoalbuminémie, la diminution du cholestérol.

A des degrés de sensibilité différents, elles s'accorderont suivant leur nature à objectiver, soit l'altération parenchymateuse du foie, soit la stimulation du S.R.E. hépatique et extra-hépatique.

TRAVAUX PERSONNELS



CONDITIONS DU TRAVAIL

Matériel

Presque toutes les observations proviennent du service des contagieux de l'Hôpital Militaire Desgenettes.

Les autres ont été prises, soit à l'Hôpital d'Arles, soit dans notre clientèle privée.

Leur nombre (401) nous interdit de les détailler. Pour éviter une énumération encore plus fastidieuse que les chiffres que nous produirons, nous les avons groupées en plusieurs catégories.

A) Paludéens.

Presque tous sont des rapatriés de fraîche date. Leur parasitose n'avait donc pu s'éteindre encore (loi de Rieux). Ces sujets avaient subi en zone d'endémie des contaminations répétées.

Il nous paraît essentiel d'insister sur cette qualité de rapatrié de région d'infestation palustre. Elle caractérise tous nos sujets d'observation. Il s'ensuit que tous nos résultats et toutes nos conclusions doivent être interprétés à la lumière de cette constatation.

Il est bien évident que l'imprégnation palustre et les perturbations humorales qui en découlent peuvent se révéler très distinctes de ce qu'elles sont dans les régions de contamination. Les réinoculations répétées que subit le paludéen en Indochine ou en Afrique du Nord, installent un terrain qui se modifie certainement lorsque, le malade ayant réintégré la métropole, ces phénomènes de sommation ont cessé. Il y a donc plus qu'une nuance entre l'état humoral du paludéen rapatrié et celui de l'indigène ou du colon qui continuent à subir l'infestation plasmodiale.

Les limites que nous pourrions fixer à la signification des R.H., ne sont donc ni forcément ni vraisemblablement valables en zone d'endémie.

D'autre part, ces mêmes malades qui font l'objet de notre étude ont bénéficié d'une prophylaxie systématique et d'un traitement en général bien conduits, ce qui les distingue encore de beaucoup d'indigènes méoprégiés dont les réactions de défense n'ont pu être ni préparées, ni stimulées par les antimalariques.

Nous avons réparti nos observations, en trois principaux groupes * :

1° Les rapatriés dont le paludisme a été récemment confirmé par un examen parasitologique effectué, soit à l'Hôpital Desgenettes, soit dans un autre hôpital militaire. Par « récemment », nous entendons un délai inférieur à deux mois avant les prélèvements sérologiques.

2° Ceux dont le paludisme était anciennement confirmé : la preuve parasitologique a été apportée par un hôpital militaire, plus de deux mois avant notre examen.

3° Les sujets à paludisme simplement allégué : seront rangés dans cette catégorie tous ceux chez qui un Plasmodium n'a pas été mis en évidence, même si l'examen clinique militait en faveur du diagnostic palustre (c'est le cas général).

B) Non paludéens.

Nous avons résumé dans ce groupe une cinquantaine de cas assez mélangés, comprenant amibiases, syphilis, cirrhoses, hépatites virales, etc... Les ictères épidémiques sont en grand nombre ; ce sont eux, en effet, qui conduisent, d'après certains auteurs comme Vilki, les R.H. aux erreurs par excès les plus fréquentes.

* Ces trois groupes seront par la suite respectivement désignés par les abréviations suivantes :

P.R.C. (paludisme récemment confirmé).

P.A.C. (paludisme anciennement confirmé).

P.A. (paludisme allégué).

Examens de Laboratoires

Ils ont été effectués au moins une fois en général le jour de l'accès, ou deux jours après, ce qui peut expliquer un certain nombre de réactions négatives. Nous insistons sur ce point, Henry ayant toujours mis l'accent sur l'affaiblissement de la réponse sérologique au moment de l'acmé des signes cliniques.

1° Réactions sérologiques.

Dans leur presque totalité elles ont été exécutées au Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Militaire Desgenettes.

Plusieurs réactions du même type ont été en général pratiquées pour le même sujet. Cependant nos statistiques, en règle générale, ne tiendront compte que d'un examen par observation. Nous indiquerons le moment venu de quelle réponse nous ferons état.

a) Réaction de Henry.

Nous devons les antigènes à l'obligeance du Docteur A.-F.-X. Henry lui-même.

1. Mélando-floculation.

La technique utilisée est celle que nous avons décrite p. 32. Elle ne comporte pas de tube pour mesure de l'hydrosérofloculation, qui aurait fait double emploi avec la réaction de Chorine et les tests de labilité plasmatique.

Interprétation : nous avons considéré comme normaux les chiffres inférieurs à 12, comme douteux les valeurs comprises entre 12 et 20, comme positifs les sérums atteignant 20 et au delà.

2. Réactions à l'hémozoïne artificielle et à l'hémozoïne mélanique.

Sauf pour une cinquantaine d'observations qui ont bénéficié du nouvel antigène, les réactions ont été effectuées avec l'hémozoïne artificielle simple.

Nous avons suivi le protocole opératoire exact préconisé par Henry et rapporté p. 50.

b) Réactions secondaires.

Nous avons adopté, pour les réactions de Chorine et de Le Bourdelles et Mauvais, les techniques et les limites de positivité indiquées p. 69.

c) Réactions de labilité plasmatique.

Nous avons recouru au thymol-test de Maclagan, à la réaction à la céphaline-cholestérol de Hanger, aux réactions de Gros et de Takata-Ara, aux red-colloïdal-test de Maizels-Ducci.

1° Réaction de Takata-Ara.

La technique utilisée est celle qu'indique Fiessinger (59).

2° Réaction de Gros.

— Technique :

Nous avons adopté celle de Barbier (8), mais nous avons fixé l'affusion de la solution de Hayem dans le sérum de la façon suivante : 1 cc., pause de 1 min. ; puis 0,1 cc. toutes les 15 secondes.

— Interprétation :

Réaction négative au-dessus de 1,9 cc.

Réaction douteuse entre 1 et 1,7 cc.

Réaction positive pour 1,7 cc., et en deçà de ce chiffre.

3° Réaction de Hanger.

— Technique exposée par Barbier.

Vu l'extrême sensibilité de cette réaction, nous n'avons pas tenu compte des réactions douteuses.

4° Réaction de Maclagan.

— Technique :

Nous avons utilisé la technique recommandée par Justin-Besançon, Fauvert, Klotz, Barbier, et Hartmann (8, 57, 93).

— Interprétation :

Réaction négative au-dessous de 30.

Réaction positive à 30 et au-dessus.

5° Réaction au rouge colloïdal de Maizels-Ducci.

— Technique :

Le red-colloïdal-test, découvert par Maizels (119), repris par Ducci (48) et exposé par Albot et Corteville (3), utilise une suspension colloïdale de Rouge écarlate additionné de Bleu Evans. Nous nous sommes servi du Rouge Cérol Geigy.

Comme le recommandent Bénazet (10) et Fontanges (60), nous avons préféré le pH de 7,5 à celui de 7,37.

2° Electrophorèse.

Les sérums proviennent de paludéens rapatriés en accès de reviviscence. Concurremment ont été effectués les R.H. et les T.H. énumérés plus haut.

A) Electrophorèse en veine liquide.

Les diagrammes électrophorétiques ont été établis à l'Institut de Biologie de Marseille (Directeur : Professeur Y. Derrien) par M. J. Reynaud (Assistante technique : Mlle P. Beaumont).

1. Electrophorèse en veine liquide (méthode de Tiselius).

Nous avons adopté les critères de référence de Armstrong, Budka et Morrison (6), légèrement modifiés par Derrien et Reynaud :

Albumines	55 %
Globulines :	
α totales	15 %
α 1	5 %
α 2	10 %
β totales	14 %
β 1	11 %
β 2	3 %
γ totales	16 %
γ 1	5 %
γ 2	11 %

Rapport Albumines/Globulines : 1,2.

2. Electrophorèse sur papier.

L'électrochromatographie a été pratiquée suivant la technique de Durrum (51) décrite par Wunderly et Reynaud (198).

Nous avons considéré comme normales les données suivantes :

Albumines	40 %
Globulines :	
α totales	21 %
α 1	8 %
α 2	13 %
β totales	15 %
β totales	24 %

Rapport Albumines/Globulines : 0,66.

Après électrochromatographie, les protéines de certains sérums ont été éluées.

L'élution des différentes portions du papier, correspondant en fin d'expérience à la position des fractions protidiques, a été effectuée par lavage à l'eau physiologique.

Les éluats, concentrés 6 h. à 20° C. par ventilation, ont fait l'objet des R.H. au Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Militaire Desgenettes dans les mêmes conditions que celles que nous avons exposées plus haut. On a utilisé un volume d'éluat identique au volume de sérum recommandé par Henry : 0,25 cm³. Ce volume correspond à une prise d'essai de 1 cm³ de sérum.

Pour chaque sérum, deux types d'éluats ont été traités, qui comportaient l'un les γ globulines, le second le mélange des autres fractions : albumines + α + β globulines.

EXPOSÉ DES RÉSULTATS

RÉACTIONS SÉROLOGIQUES

A. — Etude séparée de chaque groupe de réactions

1. Séro-réactions de Henry.

a) Dans le paludisme.

1. Paludisme allégué : 109 observations.

1° Etude globale.

Dans cette rubrique, nous ne tenons pas compte de la nature de la R.H. utilisée, qu'il s'agisse de la mélanofloculation seule, de la réaction à l'hémozoïne seule, ou des deux à la fois ; dans ce dernier cas, n'entreront dans les statistiques que les réactions comportant des réponses concordantes : mélanofloculation et hémozoïne, toutes deux positives ou toutes deux négatives.

Ces remarques seront également valables dans les autres chapitres, chaque fois que nous étudierons globalement les réponses sérologiques.

Réactions positives.....	9	soit 10 %
Réactions négatives.....	83	soit 90 %

2° Comparaison des R.H. entre elles.

a) Concordances : 88 cas.

Dans la négativité.....	80	soit 91 %
Dans la positivité.....	8	soit 9 %

b) Discordances : 21 cas.

Mélano + et Hémozoïne — 13

Mélano — et Hémozoïne + 4

c) Résultats donnés par chaque réaction.

Mélano positives 21 soit 20 %

Mélano négatives 86 soit 80 %

Hémozoïne positive 13 soit 12 %

Hémozoïne négatives 93 soit 88 %

2. Paludisme anciennement confirmé : 106 observations.

1° Etude globale.

Réactions positives 13 soit 14 %

Réactions négatives 79 soit 86 %

2° Comparaison des R.H.

a) Concordances : 67 cas.

Dans la négativité 62 soit 93 %

Dans la positivité 5 soit 7 %

b) Discordances : 14 cas.

Mélano + et Hémozoïne — 12

Mélano — et Hémozoïne + 2

c) Les résultats donnés par chaque réaction.

Mélano positives 23 soit 22 %

Mélano négatives 81 soit 78 %

Hémozoïne positives 9 soit 11 %

Hémozoïne négatives 74 soit 89 %

3. Paludisme récemment confirmé : 112 observations.

1° Etude globale.

Réactions positives 62 soit 70 %

Réactions négatives 26 soit 30 %

2° Comparaison des R.H.

a) Concordances : 44 cas.

Dans la négativité 14 soit 32 %

Dans la positivité 30 soit 68 %

b) Discordances : 24 cas.

Mélano + et Hémozoïne — 9

Mélano — et Hémozoïne + 15

c) Les résultats donnés par chaque réaction.

Mélano positives	63	soit 61 %
Mélano négatives	40	soit 39 %
Hémozoïne positives	53	soit 69 %
Hémozoïne négatives	24	soit 31 %

b) Dans d'autres maladies que le paludisme.

1° Statistique d'ensemble.

1. Etude globale : 49 observations.

Réactions positives	10	soit 22 %
Réactions négatives	36	soit 78 %

2. Etude comparée.

a) Concordances : 22 cas.

Dans la négativité	19	soit 86 %
Dans la positivité	3	soit 14 %

b) Discordances : 3 cas.

Mélano + et Hémozoïne —	2
Mélano — et Hémozoïne +	1

c) Résultats donnés par chaque réaction :

Mélano positives	12	soit 24 %
Mélano négatives	37	soit 76 %
Hémozoïne positives	4	soit 16 %
Hémozoïne négatives	21	soit 84 %

2° Dans chaque catégorie de maladie.

1. Hépatite virale : 32 observations.

a) Etude globale : 31 cas.

Réactions positives	7	soit 23 %
Réactions négatives	24	soit 77 %

b) Etude comparée :

Concordances : 11 cas.

Dans la négativité	9	soit 82 %
Dans la positivité	2	soit 18 %

Discordance : 1.

Mélano + et Hémozoïne —	1
Mélano — et Hémozoïne +	0

c) Résultats donnés par chaque réaction :

Mélano positives	8	soit 26 %
Mélano négatives	23	soit 74 %
Hémozoïne positives	2	soit 15 %
Hémozoïne négatives	11	soit 85 %

2. Hépatite amibienne : 12 observations.

a) Etude globale : 11 cas.

Réactions positives	3	soit 27 %
Réactions négatives	8	soit 73 %

b) Etude comparée :

Concordances : 6 cas.

Dans la négativité	5
Dans la positivité	1

Discordance : 1.

Mélano + et Hémozoïne —	1
Mélano — et Hémozoïne +	0

c) Résultats donnés par chaque réaction :

Mélano négatives	8
Mélano positives	4
Hémozoïne négatives	6
Hémozoïne positive	1

3. Mononucléose infectieuse.

Réactions négatives (mélano)	1
Réactions douteuses (mélano)	1
Réactions positives (mélano)	0

4. Cirrhoses.

Réactions positives	1
Réactions négatives (aux 2 R.H.)	2

5. Parasitose intestinale (lamblase, ankylostomiase, avec hépatomégalie).

Réaction négative	0
Réaction positive	0

6. Syphilis à B.-W. fortement positif (++++) : 5 cas.

Réactions négatives (aux 2 R.H.) sauf dans 1 cas où l'hémozoïne était douteuse.

7. Néoplasie prostatique : 1 cas, les deux R.H. sont négatives.

Ces statistiques nous permettent déjà de porter un premier jugement sur les R.H.

1° Sensibilité comparée des deux R.H.

Il est curieux de remarquer que la mélanofloculation montre une plus grande sensibilité dans les P.A. et P.A.C., tandis que dans le P.R.C. c'est l'hémozoïne qui offre le plus de résultats positifs.

En effet, dans les P.A. et P.A.C., la mélanofloculation totalise respectivement 20 et 22 résultats positifs p. 100, alors que l'hémozoïne ne parvient qu'à 12 et 11 %.

Au contraire, dans le P.R.C., l'hémozoïne prend l'avantage avec 69 % au lieu de 61 pour la mélanofloculation. Dans ce groupe de malades, les discordances attestent la supériorité de cette dernière technique : dans 15 cas l'hémozoïne est positive alors que la mélanofloculation est négative ; on compte seulement 9 cas où c'est l'inverse qui se produit.

2° Sensibilité globale des R.H.

Ce renversement de sensibilité suivant les groupes de paludéens auxquels on s'adresse, coïncide avec un changement considérable dans la sensibilité moyenne des R.H.

Dans le P.A., 10 % seulement des réactions sont positives ; le pourcentage passe à 14 dans le P.A.C. tandis qu'il atteint 62 dans le troisième groupe.

Il est probable, comme nous l'avons reconnu plus haut (p. 96) que le nombre des réactions positives dans cette catégorie aurait été encore plus important si l'on avait pratiqué les prélèvements quelques jours après l'accès et non comme c'est souvent le cas pour nos observations, au moment de l'accès.

Force nous est cependant d'admettre que dans les périodes de latence, les R.H. sont en général muettes. Ce n'est que dans les phases aiguës de la maladie, — du moins en France — que l'on peut compter sur une réponse vraiment positive de leur part.

3° Spécificité des R.H.

Le comportement des R.H. dans des affections autres que la malaria, nous paraît satisfaisant.

Avant d'analyser les résultats que nous avons exposés, il ne nous paraît pas inutile d'attirer l'attention sur les points suivants :

1. Dans les cas où les R.H. sont positives, la positivité n'affecte souvent qu'un examen, alors que, à plusieurs reprises chez le même malade, les R.H. ont été trouvées négatives. D'autre part même lorsque les examens ont été négatifs plusieurs fois chez un seul malade, nous n'avons compté qu'une négativité.

2. La plupart du temps, quand la réaction est positive, c'est la mélanofloculation qui est en cause, la réaction à l'hémozoïne ayant été soit négative, soit absente.

3. Un certain nombre de cas positifs ont été observés chez des sujets pour lesquels on avait posé le diagnostic indiqué dans notre statistique. Ce diagnostic n'était pas toujours forme, surtout celui d'hépatite amibienne.

4. Alors même que ce dernier était certain, on ne pouvait pour autant exclure la malaria, étant donné les antécédents géographiques des malades (la plupart venait de zone d'endémie palustre). En effet, les accès de paludisme avaient pu être camouflé par le syndrome suppuratif.

5. C'est à la lumière de ces considérations que l'on doit interpréter le pourcentage de positivités objectivement constaté de 22.

Comme nous venons de le préciser, la mélanofloculation pèse particulièrement sur cette moyenne statistique. Elle est responsable à elle seule de 24 positivités sur 100, alors que l'hémozoïne n'atteint que 16 %. Dans les hépatites virales la mélanofloculation conserve approximativement son pourcentage de 25, tandis qu'on ne compte que 15 % pour l'hémozoïne.

La réaction à l'hémozoïne semble donc plus sensible et plus spécifique que la mélanofloculation, mais les deux réactions fournissent cependant des réponses séparées qui paraissent convenables et des réponses moyennes qui garantissent une sécurité suffisante.

2. Réactions secondaires.

a) Dans le paludisme.

1. Paludisme allégué : 78 observations.

1^{re} Etude globale :

Réactions positives	0
Réactions négatives	78 soit 100 %

2° La comparaison des R.S. n'a pu être établie, les deux réactions n'ayant jamais été exécutées simultanément chez le même sujet.

3° Résultats donnés par chaque réaction :

Réactions de Chorine négatives	20	soit 100 %
Réaction de Chorine positive	0	
Réactions de Le Bourdellès négatives	20	soit 100 %
Réaction de Le Bourdellès * positive	0	

2. Paludisme anciennement confirmé.

1° Etude globale : 108 observations.

Réactions positives	7	soit 6 %
Réactions négatives	101	soit 94 %

2° Etude séparée :

Réactions de Chorine positives	5	soit 12 %
Réactions de Chorine négatives	38	soit 88 %
Réactions de L.B.D. positives	2	soit 3 %
Réactions de L.B.D. négatives	63	soit 97 %

3. Paludisme récemment confirmé : 119 observations.

1° Etude globale :

Réactions positives	49	soit 41 %
Réactions négatives	70	soit 59 %

2° Etude séparée :

Réactions de Chorine positives	13	soit 30 %
Réactions de Chorine négatives	31	soit 70 %
Réactions de L.B.D. positives	36	soit 48 %
Réactions de L.B.D. négatives	39	soit 52 %

b) Dans les autres maladies : 43 observations.

Réactions positives	12	soit 28 %
Réactions négatives	31	soit 72 %

Les réactions de Chorine et de Le Bourdellès se révèlent donc encore moins sensibles dans le P.A. et dans le P.A.C. que les R.H. (0 % de positivité dans le premier groupe et 6 % dans le deuxième) ; dans le P.R.C., le chiffre des réactions positives n'atteint même pas la moitié du nombre des observations.

La réaction de Le Bourdellès paraîtrait légèrement plus sensible que la réaction de Chorine.

* Lire désormais L.B.D. pour Le Bourdellès.

Leurs spécificités sont nettement insuffisantes puisqu'elles atteignent le même pourcentage de réactions positives dans l'hépatite virale (41 %) que dans le P.R.C.

2. Test de labilité plasmatique.

a) Dans le paludisme.

1. Paludisme allégué : 98 observations.

1° Etude globale :

Réactions positives.....	7	soit 8 %
Réactions négatives.....	78	soit 92 %

2° Etude comparée :

Concordances positives : 2.

Concordances négatives : 20.

Discordances : 13.

3° Résultats donnés par chaque test :

Maclagan positifs.....	9
négatifs.....	88
Hanger positifs.....	16
négatifs.....	59
Gros ou T.A.* positifs.....	4
négatifs.....	23

2. Paludisme anciennement confirmé : 105 observations.

1° Etude globale :

Réactions positives.....	9	soit 10 %
Réactions négatives.....	77	soit 90 %

2° Etude comparée :

Concordances positives : 7.

Concordances négatives : 42.

Discordances : 19.

3° Résultats donnés par chaque test :

Maclagan positifs.....	14	soit 13 %
négatifs.....	91	soit 87 %
Hanger positifs.....	16	soit 27 %
négatifs.....	44	soit 73 %
Gros ou T.A. positifs.....	8	soit 19 %
négatifs.....	34	soit 81 %

* T.A. : Takata-Ara.

3. Paludisme récemment confirmé : 113 observations.

1° Etude globale :

Réactions positives	57	soit 67 %
Réactions négatives.....	28	soit 33 %

2° Etude comparée :

Concordances positives : 45.

Concordances négatives : 16.

Discordances : 28.

3° Résultats donnés par chaque test :

Maclagan	positifs	68	soit 60 %
	négatifs.....	45	soit 40 %
Hanger	positifs	64	soit 77 %
	négatifs.....	19	soit 23 %
Gros ou T.A.	positifs	24	soit 51 %
	négatifs.....	23	soit 49 %

Etude spéciale du red-colloïdal-test *.

1. Dans le paludisme récemment confirmé : 25 observations.

1° Etude séparée :

Réactions positives : 25.

Réactions négatives : 1.

2° Comparaison des quatre tests entre eux :

Concordances positives : 11.

Concordances négatives : 1.

Discordances : 14.

3° Résultats donnés par chaque réaction :

R.C.T.	positifs	25	soit 96 %
	négatifs.....	1	soit 4 %
Maclagan	positifs	18	soit 69 %
	négatifs.....	8	soit 31 %
Hanger	positifs	15	soit 83 %
	négatifs.....	3	soit 17 %
Gros	positifs	11	soit 42 %
	négatifs.....	15	soit 58 %

* Lire désormais R.C.T. pour : Red-Colloïdal-Test.

b) Dans les autres maladies que le paludisme : 41 observations.

1. Statistique d'ensemble.

1° Etude globale :

Réactions positives : 31.

Réactions négatives : 15.

2° Etude comparée :

Concordances positives : 19.

Concordances négatives : 14.

Discordances : 8.

3° Résultats donnés par chaque réaction :

Maclagan	positifs	25
	négatifs	17
Hanger	positifs	24
	négatifs	11
Gros ou T.A.	positifs	18
	négatifs	28

2. Dans chaque catégorie de maladies :

Hépatite virale :

Réactions positives : 29.

Réactions négatives : 6.

Concordances positives : 18.

Concordances négatives : 5.

Discordances : 7.

Résultats donnés par chaque réaction :

Maclagan	positifs	23
	négatifs	7
Hanger	positifs	22
	négatifs	4
Gros ou T.A.	positifs	18
	négatifs	17

Hépatite amibienne :

Réactions positives : 0.

Réactions négatives : 8.

Mononucléose infectieuse :

Réactions positives : 1 (le Gros seul a été négatif).

Réactions négatives : 0.

Parasitose intestinale :

- Réactions positives : 1 (à tous les tests).
- Réactions négatives : 2.

Le R.C.T. dans d'autres affections que le paludisme : 22 observations.

1) Hépatite virale :

- Réactions positives : 18.
- Réaction négative : 1.

2) Mononucléose infectieuse :

- Réaction positive : 1.
- Réaction négative : 0.

3) Parasitose intestinale :

- Réaction positive : 0.
- Réaction négative : 1.

4) Hépatite amibienne :

- Réaction positive : 0.
- Réaction négative : 1.

On remarque que les tests de labilité plasmatique sont généralement négatifs dans les P.A. et P.A.C. (92 et 90 %). Ils sont, par contre, souvent positifs dans le P.R.C. (67 %).

Dans les deux premières catégories, c'est le Maclagan qui totalise le plus de résultats négatifs, puis le Gros. Le Hanger s'avère le plus sensible.

Dans le troisième groupe, le Hanger détient le record des positivités avec 77 %, le Maclagan parvient à 60, et le Gros à 51 seulement.

Dans les autres maladies que le paludisme, tout au moins dans celles que nous avons choisies, on obtient 75 % de positivités. Il est évident que cette très forte proportion doit être attribuée aux troubles histologiques de nature mésenchymateuse qu'elles entraînent toutes, sauf l'hépatite amibienne et la parasitose intestinale. C'est à des motifs du même ordre qu'obéissent dans leur comportement les tests hépatiques à l'égard du paludisme de reviviscence.

De sorte que, si effectivement on peut leur accorder une certaine sensibilité dans l'exploration biologique de la malaria, on est obligé de leur refuser toute spécificité.

Ce qui est vrai pour l'ensemble des tests hépatiques, se vérifie également quand on étudie séparément chacun d'eux. Le Mac-lagan montre les mêmes caractéristiques dans l'hépatite virale par exemple, que dans le paludisme de reviviscence.

Comme dans ce dernier, le Hanger fournira dans l'ictère épидémique un nombre de résultats positifs plus considérable que les autres tests, de même que le Gros ne répondra que dans la minorité des cas. Encore le pourcentage de 75 % que nous avons mentionné, doit-il être affecté d'un coefficient de correction : en effet, les trois réactions ont été souvent pratiquées pour le même malade, et les résultats n'ont pas été chaque fois positifs : c'est ainsi que pour l'un d'eux qui présentait un ictère infectieux les T.H. ont été effectués trois fois. La positivité n'est apparue qu'au dernier examen. Dans un autre cas les T.H. ont été positifs deux fois seulement sur trois. Dans 4 cas, elles ont été négatives deux fois sur quatre.

Le R.C.T. mérite, dans les tests de labilité plasmatique une place à part. Il est tout à la fois plus sensible, plus précoce, plus fidèle et plus spécifique. Mais ces qualités s'exercent naturellement dans le cadre exclusif de l'atteinte réticulo-endothéliale; pas plus que les autres T.H., il ne permet de fixer le diagnostic que l'on hésiterait à poser par exemple entre une hépatite mésenchymateuse, un accès de reviviscence schizogonique ou une mononucléose infectieuse.

Il n'est spécifique que de l'atteinte conjonctive, mais à ce titre, l'est beaucoup plus que toutes les autres réactions de labilité plasmatique.

B. — Etude comparée

I. Tests de labilité plasmatique et réactions secondaires.

Dans le paludisme.

A) Etude globale :

	P.A.	P.A.C.	P.R.C.
Concordances positives	0	5	33
négatives.....	76	77	26
Discordances RH + et RS —....	2	21	42
RH — et RS +....	0	1	3

B) Comparaison détaillée : I RH et les RS.

1° Mélanofloculation.

1) Mélano et RS en général :

Concordances positives	0	5	35
négatives.....	76	75	24
Discordances Mélano + et RS —.	2	24	37
Mélano — et RS +.	0	1	5

2) Mélano et I RS :

— L.B.D.

Concordances positives	0	1	23
négatives.....	56	47	15
Discordances Mélano + L.B.D. —.	2	17	16
Mélano — L.B.D. +.	0	0	5

— Chorine.

Concordances positives	0	4	12
négatives.....	20	28	0
Discordances Mélano + Chor. —.	0	7	21
Mélano — Chor. +.	0	1	0

2° Hémozoïne.

1) Hémozoïne et RS en général :

Concordances positives	0	5	21
négatives.....	76	68	12

	P.A.	P.A.C.	P.R.C.
Discordances Hz* + et RS —	2	4	10
Hz — et RS +	0	0	2
2) Hémozoïne et 1 RS :			
— L.B.D.			
Concordances positives	0	2	20
négatives	56	44	12
Discordances Hz + et L.B.D. — .	2	2	5
Hz — et L.B.D. + .	0	0	2
— Chorine.			
Concordances positives	0	3	1
négatives	20	24	0
Discordances Hz + et Chorine — .	0	2	5
Hz — et Chorine + .	0	0	0

Dans d'autres maladies que le paludisme.

a) Réactions négatives.

1. R.H.

R.H. en général : Hépatite virale : 22.
Hépatite amibienne : 9.
Mononucléose infectieuse : 1.

Chaque R.H. : Mélano : 28.
Hémozoïne : 16.

2. R.S.

R.S. en général : Hépatites virales : 16.
Hépatites amibiennes : 13.
Mononucléose infectieuse : 1.
Parasitose intestinale : 1.

b) Réactions négatives.

1. R.H.

R.H. en général : Hépatites virales : 7.
Hépatites amibiennes : 4.
Mononucléose infectieuse : 1.

Chaque R.H. : Mélano : 11.
Hémozoïne : 2.

2. R.S.

R.S. en général : Hépatites virales : 11.
Hépatites amibiennes : 1.

* Hz : Hémozoïne.

1° Sensibilité comparée.

Si dans le P.A. les résultats donnés respectivement par les R.S. et les R.H. concordent, c'est dans la négativité.

Cette concordance négative est déjà moins marquée dans le P.A.C. : 21 fois, les R.H. sont positives et les R.S. négatives, alors que l'inverse s'observe une fois seulement.

Dans le P.R.C. les R.S. sont défailantes dans 42 cas, tandis que les R.S. sont simultanément positives.

Les R.H. se montrent donc incomparablement plus sensibles que les R.S.

2° Sensibilité comparée.

La spécificité des R.H. est également supérieure à celle dont témoignent les R.S.

On relève, en effet, dans les hépatites virales 11 réactions positives sur 31, alors qu'on ne peut reprocher dans les mêmes cas à la mélanofloculation, que 7 réactions aberrantes.

L'hémozoïne donne des réponses encore plus authentiques puisqu'elles ne présentent que 2 réactions positives sur 16 observations, tandis qu'on peut en imputer 12 sur 31 aux R.S.

2. Tests de labilité plasmatique et réactions de Henry.

Dans le paludisme.

1° Etude globale :

	P.A.	P.A.C.	P.R.C.
Concordances positives	3	2	43
négatives.....	65	60	7
Discordances RH + et TH —..	4	7	5
RH — et TH +..	1	2	6

2° Comparaison détaillée :

1) R.H. complètes et T.H. complets.

Concordances positives	0	0	7
négatives.....	18	22	2
Discordance	0	0	0

2) R.H. complètes et chaque R.H.

— Maclagan.

Concordances positives	3	3	43
négatives.....	74	69	17

	P.A.	P.A.C.	P.R.C.
Discordances RH + et Mclag. —	6	8	13
RH — et Mclag. +	2	5	8
— Hanger.			
Concordances positives	6	2	1
négatives.....	54	36	7
Discordances RH + et Hanger —	2	2	1
RH — et Hanger +	6	10	11
— Gros ou T.A.			
Concordances positives	0	1	17
négatives	19	28	7
Discordances RH + et Gros —..	1	2	7
RH — et Gros +..	0	0	0
3) I R.H. et les T.H.			
Mélanofloculation.			
a) Mélano et T.H. complets.			
Concordances positives.....	0	0	11
négatives.....	18	25	4
Discordances Mélano + et TH —	1	2	4
Mélano — et TH +	0	0	2
b) Mélano et chaque T.H.			
— Mac Lagan.			
Concordances positives	3	3	40
négatives.....	74	67	16
Discord. Mélano + MacLagan —	11	18	13
Discord. Mélano — MacLagan +	1	5	7
— Hanger.			
Concordances positives	10	9	39
négatives.....	53	36	7
Discordances Mélano + Hang. —	6	3	6
Mélano — Hang. +	6	8	10
— Gros ou T.A.			
Concordances positives	1	1	17
négatives.....	19	28	7
Discordances Mélano + Gros —.	3	3	11
Mélano — Gros +.	0	0	0

c) Mélando et T.H. en général :	P.A.	P.A.C.	P.R.C.
Concordances positives	3	3	40
négatives.....	65	60	7
Discordances Mélando + TH —..	7	13	8
Mélando — TH +..	1	2	6

Hémozoïne.

a) Hémozoïne et chaque T.H. :

— Maclagan.

Concordances positives	3	3	28
négatives.....	73	59	11
Discordances Hz + TH —.....	8	11	12
Hz — TH +.....	2	3	6

— Hanger.

Concordances positives	7	2	34
négatives.....	52	32	5
Discordances Hz + Hanger —..	3	0	6
Hz — Hanger +..	6	10	11

— Gros ou T.A.

Concordances positives	0	0	8
négatives.....	19	22	5
Discordances Hz + et Gros —..	2	1	8
Hz — et Gros +..	0	0	0

b) Hémozoïne et T.H. en général :

Concordances positives	3	2	32
négatives.....	63	46	3
Discordances Hz + et TH —....	6	2	8
Hz — et TH +....	1	1	2

1° Sensibilité comparée.

Les deux groupes de réactions semblent donner dans le paludisme, quelle que soit la catégorie, des résultats passablement concordants.

Les R.H. et les T.H. montrent, en effet, globalement une négativité quasi-constante (90 % en moyenne) dans les P.A. et P.A.C., et une positivité parallèle chez des malades dont les tests sérologiques ont été effectués peu de temps après l'authentification parasitologique.

Mais si l'on y regarde de près, on constate que ce parallélisme ne se retrouve pas dans la confrontation de chaque réaction d'un groupe avec les réactions de l'autre groupe.

Ainsi pour la comparaison R.H. Maclagan, on observe sur 42 dissociations, 27 à l'avantage des R.H., et 15 seulement où le thymol-test montre une supériorité.

Le Gros est encore moins sensible que le Maclagan : 10 fois les R.H. sont positives et le Gros est simultanément défailant ; pas une fois l'inverse ne se produit.

L'opposition de chaque type de R.H. au groupe des T.H. conduit à des conclusions analogues.

La mélanofloculation est plus sensible que les T.H. en général, et que le Maclagan et le Gros en particulier ; mais elle l'est moins que le Hanger.

La réaction à l'hémozoïne affirme encore plus nettement ces caractéristiques que la réaction à la mélanine ferrique.

2° Spécificité comparée.

Indiscutablement les R.H. jouissent d'une spécificité très supérieure à celle des T.H.

En effet, si l'on considère les pourcentages d'erreurs par excès obtenus avec les R.H., on constate que celles-ci pèchent par excès 22 fois sur 100, alors que les T.H. accusent 75 % de résultats positifs erronés.

Ainsi s'annule l'apparente supériorité que le Hanger avait prise sur les R.H. en fournissant dans le paludisme des pourcentages de positivité plus brillants.

Il n'existe donc — loin de là — aucun parallélisme frappant entre les R.H. et les réactions du type de celles que Chorine voulait abusivement confondre dans une même correspondance clinique et physico-chimique.

3. Réactions secondaires et tests de labilité plasmatique.

Au contraire, la confrontation de ces deux types de réactions confirme l'affinité que l'on pouvait déduire de l'étude de leur mécanisme physico-chimique.

La proportion de réponses positives fournies par les R.S. dans le P.R.C., est identique dans l'hépatite virale (41 %).

Les R.H. obtiennent, dans les autres maladies que le paludisme, citées dans nos statistiques, un pourcentage analogue de positivité à celui qu'elles fournissent dans le P.R.C.

Le comportement des T.H. et celui des R.S. sont donc voisins. Il faut cependant, au détriment des R.S., apporter un correctif à cette analogie : si leur manque de spécificité est tout à fait comparable, leur sensibilité ne peut être mise sur le même plan. Les tests de labilité plasmatique totalisent, dans le P.R.C. 67 réactions positives sur 100, et les réactions secondaires n'atteignent que 41 %.

On peut donc considérer les R.S. comme des T.H. mineurs.

Evolution des réponses dans le temps

Nous avons vérifié la notion généralement admise de l'apparition des R.H. après le troisième ou le quatrième accès.

D'autre part, nous faisons nôtres les assertions de Landon (102) : la positivité des R.H. dure environ deux mois. Ce délai écoulé, le nombre des réactions positives décroît considérablement ce qui explique le chiffre relativement faible que nous avons observé dans le P.A.C.

Comparaison du comportement des R.H. entre elles.

Sur 28 observations, nous constatons que la réaction à l'hémozoïne a été dans 3 cas plus précoce que la mélanofloculation. Neuf fois, elle s'est éteinte ou atténuée avant la mélanofloculation ; dans 3 cas seulement, c'est l'inverse qui a eu lieu.

L'hémozoïne serait donc plus précoce et plus labile que la réaction à la mélanine ferrique.

Comparaison du comportement des T.H. entre eux.

Comme Fauvert, Schneider et Hartmann, nous remarquons que c'est le Hanger qui persiste le plus longtemps et le Gros qui disparaît le premier.

Comparaison du comportement des R.H. et des T.H.

Dans 27 observations, nous avons confronté T.H. et R.H. huit jours après la preuve parasitologique, la mélanofloculation montre encore une positivité nette, alors que les T.H. se sont négati-

vés, ou fortement affaiblis ; un mois après l'accès, nous avons constaté un phénomène analogue dans 2 cas.

Dans 8 cas sur 29, la mélanofloculation est positive à 8 jours d'intervalle, alors que le Maclagan est resté négatif ; 14 fois le thymol-test a persisté dans sa négativité, tandis que les R.H. étaient déjà négatives.

L'évolution dans le temps des réponses des R.H. et des T.H. n'est donc pas parallèle.

Nous n'avons pas remarqué que le type de Plasmodium exerce une influence quelconque, ni sur les pourcentages de positivités, ni sur l'intensité de ces dernières, ni sur leur persistance.

Le traitement négative rapidement, comme il est classique de l'admettre, les R.H. qui persistent cependant un peu plus longtemps que les T.H.

RÉSULTATS D'ÉLECTROPHORÈSE

A) Méthode de Tiselius.

Des diagrammes électrophorétiques ont été établis sur le sérum de 8 paludéens dont l'accès avait eu lieu quelques jours avant le prélèvement de sang. La courbe obtenue figure p. 122.

Nous indiquons ci-dessous les résultats obtenus, accompagnés des examens sérologiques pratiqués simultanément :

Lo... Accès le 1-11. Examen sérologique et électrophorèse le 24-11. Mac-lagan 4, Gros 2,4 (négatifs) ; R.C.T. (faiblement positif). L.B.D. 9 (négatif). Mélando 11 (négative), Hémozoïne +.

Diagramme : Albumines	65 %
Globulines : α	7 %
β	10 %
γ 1	2 %
γ 2	16 %
Rapport A/G = 1,88.	

Cu... Accès le 2-11. Examen sérologique le 14-11. Electrophorèse le 17-11. Mac-lagan 51, R.C.T. 4 (positifs), Gros 1,8 (douteux). L.B.D. 27 (positif).

Mélano 13 (négative), Hémozoïne + + +.	
Diagramme : Albumines	52 %
Globulines : α	4 %
β	13 %
γ 1	6,5 %
γ 2	24,5 %
Rapport A/G = 1,8.	

Bo... Accès le 21-12. Examen sérologique le 24-12. Electrophorèse le 27-12. Mac-lagan 47, R.C.T. 4, Gros 1,6 Hanger + + + + (positifs). L.B.D. 31 (positif).

Mélano 8 (négative), Hémozoïne + + + +.	
Diagramme : Albumines	48 %
Globulines : α 1	2 %
α 2	6,5 %
β 1	12,5 %
β 2	5 %
γ 1	5,5 %
γ 2	20,5 %
Rapport A/G = 0,92.	

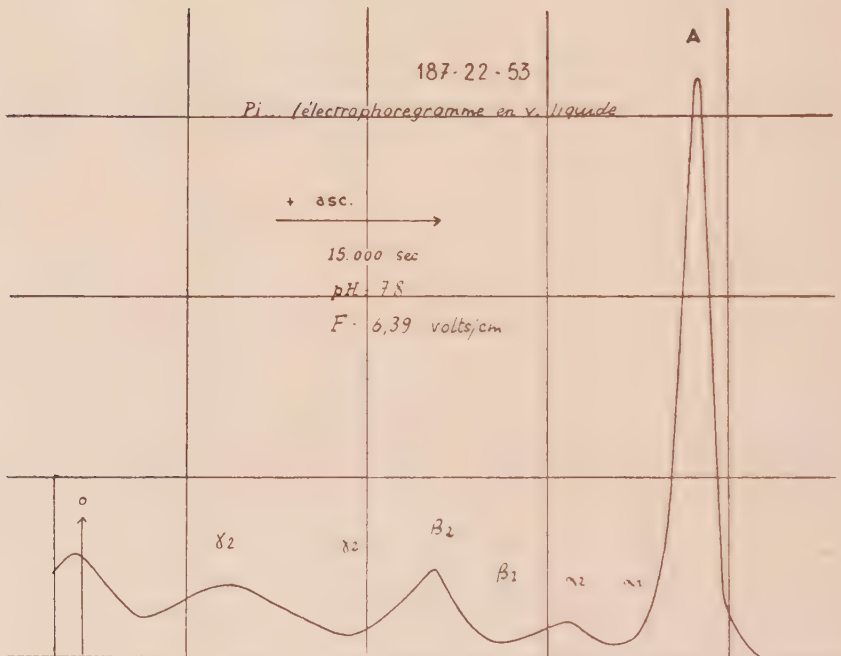
Pi... Accès le 30-1. Examen sérologique le 2-2. Electrophorèse le 5-2.
Maclagan 14, Gros 2 (négatifs), R.C.T. 5 (positif).

L.B.D. 21 (positif).

Mélano 12 (négative), Hémotoïne ++++.

Diagramme : Albumines	53,5 %
Globulines : α 1	1 %
α 2	5,5 %
β 2	15 %
γ 1	3 %
γ 2	22 %

Rapport A/G = 1,15.



Fa... Accès le 20-9. Examen sérologique le 25-9. Electrophorèse le 27-9.
Maclagan 80, Gros 1,7 R.C.T. 5 (positifs).

L.B.D. 18 (douteux).

Mélano 22, Hémotoïne +++ (positives).

Diagramme : Albumines	50 %
Globulines : α	8 %
β 1	1,5 %
β 2	13,5 %
γ 1	3 %
γ 2	24 %

Rapport A/G = 1.

Il semble que l'on puisse dégager de ces résultats les conclusions suivantes sur les modifications apportées à chaque catégorie de protéines :

1) Albumines :

Elles sont rarement touchées d'une façon profonde, en général diminuées de 10 % environ, une seule fois augmentées.

2) Globulines :

α : toujours diminuées de façon sensible (de 43 à 73 %), surtout les $\alpha 1$.

β : 2 fois diminuées, 1 fois augmentées.

γ : les γ totales sont toujours fortes. Mais les $\gamma 1$ sont souvent abaissées, alors que les $\gamma 2$ sont sans exception augmentées.

3) Rapport A/G :

Faiblement abaissé par rapport à la normale ; sauf une seule fois où il la dépasse largement (1,88).

L'électrophorèse en veine liquide révèle donc un certain nombre de variations protidiques dont les plus constantes et les plus notables sont l'augmentation des $\gamma 2$ et la diminution des $\alpha 1$ globulines.

B) Electrochromatographie.

L'électrophorèse sur papier a donné les résultats suivants :

Ro... Accès le 23-1. Examen sérologique le 27-1. Electrophorèse le 27-1.
Maclagan 45, R.C.T. 4, Hanger +++ (positifs), Gros 1,9 (négatif).
L.B.D. 32 (positif).

Mélano 24, Hémozoïne ++ (positives).

Diagramme : Albumines	33 %
Globulines : $\alpha 1$	7 %
$\alpha 2$	13,5 %
β	20,5 %
γ	26 %

Rapport A/G = 0,49.

Fa... (voir examens sérologiques, p. 122).

Diagramme : Albumines	43 %
Globulines : $\alpha 1$	7 %
$\alpha 2$	12,5 %
β	24 %
γ	23,5 %

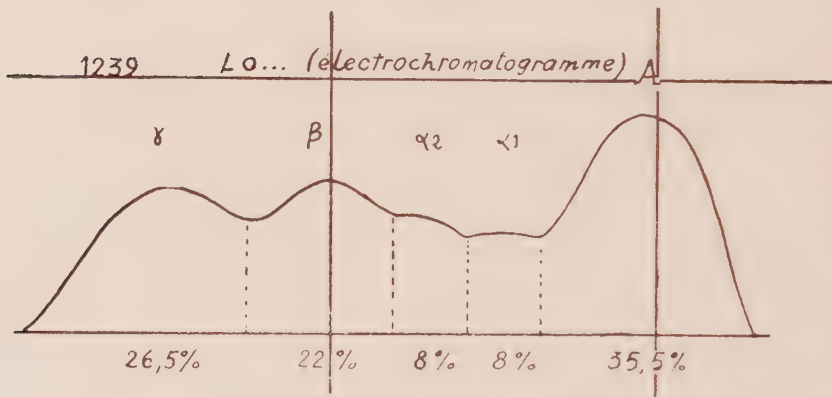
Rapport A/G = 0,64.

Pi... (voir examens sérologiques, p. 122).

Diagramme : Albumines	46 %
Globulines : α 1	6 %
α 2	13 %
β	11,5 %
γ	23,5 %
Rapport A/G = 0,85.	

Lo... (voir examens sérologiques, p. 121).

Diagramme : Albumines	35,5 %
Globulines : α 1	8 %
α 2	8 %
β	22 %
γ	26,5 %
Rapport A/G = 0,55.	



Cu... (voir examens sérologiques, p. 121).

Diagramme : Albumines	27,5 %
Globulines : α 1	8,5 %
α 2	17 %
β	14 %
γ	33 %
Rapport A/G = 0,38.	

Ad... Accès le 26-11. Examen sérologique et électrophorèse le 4-12.
 MacLagan 43, Hanger + + + +, R.C.T. 5 (positifs), Gros 2,1 (négatif).
 L.B.D. 7 (négatif).

Mélano 56, Hémozoïne + + + + (positives).	
Diagramme : Albumines	32 %
Globulines : α 2	11 %
α 2	11 %
β	18 %
γ	28 %
Rapport A/G = 0,47.	

Ces chiffres font ressortir un fléchissement des albumines et des α 1 globulines, et une élévation assez importante pour les β et légère pour les γ globulines.

Si on compare ces diagrammes aux données de l'électrophorèse en veine liquide, on constate que :

1) Les deux méthodes fournissent pour le même sujet des résultats qui ne concordent pas.

2) Par contre, la confrontation statistique objective un abaissement commun des albumines et des α 1 globulines et du rapport sérines-globulines.

3) Les autres fractions ne sont pas touchées parallèlement. L'électrochromatographie montre une augmentation des β globulines, alors que la méthode de Tisélius accuse plutôt une élévation des γ . Nous reviendrons sur ces divergences..

Rapports avec les tests de labilité plasmatique.

Il est difficile d'induire quelques règles valables de l'examen de 8 sérums sur les rapports entre les T.H. et l'électrophorèse. Tout au plus pourrions-nous remarquer en observant les diagrammes obtenus avec la méthode de Tisélius que là où les β globulines sont diminuées, le Maclagan est muet. Quant les β sont seulement normales, les γ doivent être fortement élevées pour que le thymol-test réponde. Tout ceci n'a rien de surprenant.

Résultats des R.H. sur les éluats d'électrophorèse.

Nous n'avons pu pratiquer les R.H. que sur les éluats de 3 sérums de paludéens dont l'accès remontait à moins de deux mois.

Dans un seul cas, nous avons obtenu une mélanofloculation douteuse. Le mélange des autres fractions protidiques (albumines + α + β globulines) ne nous a pas donné de réactions positives.

Les réactions obtenues avec les éluats des deux autres sérums se sont montrées complètement négatives, que ce soit sur les γ globulines ou sur le mélange des autres constituants protéiniques.

Il est regrettable que nous n'ayons pas eu à notre disposition un plus grand nombre de sérums qui nous aurait permis de tirer de cette méthode des renseignements plus valables.

DISCUSSION

VALEUR DES DIFFÉRENTS MOYENS D'EXPLORATION

Réactions sérologiques

Réactions de Henry.

Les R.H. montrent une sensibilité optima chez les paludéens rapatriés de zone d'endémie dont l'examen sérologique a été pratiqué moins de deux mois après le dernier accès.

Au delà de ce délai, les R. H. fournissent un pourcentage de positivités beaucoup moins élevé, surtout chez les sujets dont la malaria n'a pas été confirmée parasitologiquement.

Mais, contrairement à ce qu'ont affirmé beaucoup d'auteurs, il faut reconnaître aux R.H. une spécificité suffisante, puisque l'hépatite épidémique qui réalise l'état humoral le plus propice à des réponses faussement positives, nous a donné un nombre de réactions aberrantes très inférieur à celui que mentionne Vilki.

La réaction à l'hémozoïne mélanique ressort comme la plus sensible et la plus spécifique. Elle paraît aussi, bien que nous n'ayons pu le vérifier sur beaucoup de cas, plus précoce et plus labile.

Les R.H. nous ont permis de confirmer l'exactitude de la loi de Rieux contestée par Decourt (43) : la malaria s'éteint un à deux ans après le rapatriement dans la métropole. En effet, aucun de nos malades dont les R.H. se sont montrées positives n'avait quitté la zone d'endémie palustre depuis plus de deux ans ; la majorité avait rejoint la France moins d'un an auparavant.

Il semble que l'on puisse conférer aux R.H. une valeur diagnostique appréciable. Leur positivité doit inciter le clinicien à rechercher avec insistance la présence de l'hématozoaire dans le sang périphérique, si l'identification parasitologique n'a pas été déjà établie. Or, il arrive que cette preuve ait pu manquer. Nous en avons indiqué l'éventualité.

Au contraire, et à condition, bien entendu, que l'examen microscopique n'ait pas montré de *Plasmodium*, la négativité répétée des R.H. doit orienter vers une autre hypothèse clinique que la malaria.

Réactions de labilité plasmatique.

Notre jugement sur les T. H. n'est valable que dans le cadre exclusif de la malaria ; cela va sans dire.

Dans le paludisme, les réactions de labilité plasmatique ne présentent d'intérêt que si on les considère comme de simples succédanés des R.H. Le terme n'est d'ailleurs pas entièrement mérité car il implique que les T.H. suivent le comportement des R.H. d'une façon parallèle.

Nous avons vu qu'il n'en était pas ainsi : les T.H. manifestent une sensibilité égale et même supérieure aux R.H. dans le P.R.C. Mais, si l'on ose dire, cette sensibilité n'est pas de bon aloi. L'expression positive des réactions de labilité plasmatique n'est évidemment pas réservée au paludisme, et toutes les maladies où l'atteinte mésenchymateuse existe obtiennent des réponses positives aussi nettes.

Moyennant cette importante réserve, on peut avec profit utiliser les T.H. dans le paludisme si l'on ne dispose pas des antigènes de Henry. Mais si l'on possède ces derniers, quel intérêt pratique y a-t-il à mettre en évidence une insuffisance hépatique dont on sait qu'elle manque rarement et qu'elle disparaît vite ?

Réactions secondaires.

C'est sans indulgence que nous envisageons l'emploi des R.S. Qu'apportent-elles ? Une sensibilité faible, une infidélité certaine. Le pourcentage de positivités dont elles peuvent se targuer dans le paludisme est exactement annulé par le pourcentage identique qu'elles accusent dans l'ictère épidémique.

Sans intérêt pour le diagnostic, celui-ci établi, elles n'en offrent pas davantage pour le pronostic. Se référant à des perturbations

humorales non spécifiques, elles sont donc inférieures aux T.H. dont la sensibilité justifie au moins la pratique.

Leur simplicité d'exécution serait la seule qualité qui les désignerait à l'attention des biologistes. Encore ne faisons-nous allusion qu'au B.P.T., à la réaction de Chorine ou à d'autres techniques similaires ? Encore la facilité et la rapidité avec lesquelles on peut conduire un R.C.T. ou un MacLagan (les antigènes une fois préparés) doivent-elles faire préférer ces T.H. à des méthodes dont la valeur est discutable.



ÉLECTROPHORÈSE

Pas plus qu'aux T.H., on ne peut accorder de valeur à l'électrophorèse dans le diagnostic du paludisme.

Pas plus qu'aux T.H., et peut-être moins encore, car, à part le fléchissement des α 1 globulines, on retrouve dans l'hépatite épidémique des variations semblables.

La diminution globale des α globulines peut être interprétée comme un témoin banal de l'atteinte cellulaire (Wunderly et coll., 198), au même titre que l'hypoalbuminémie, sans que l'on puisse pour autant en faire comme Wunderly un signe d'insuffisance grave, puisque les sujets que nous avons examinés présentaient un paludisme de reviviscence bien supporté et rapidement guéri.

Cette hypo α globulinémie est à mettre sur le même plan que l'hypoalbuminémie fugace contemporaine du Gros dont parlent Fauvert, Schneider et Hartmann.

L'hyper γ 2 globulinémie n'est pas spécifique non plus du paludisme. Nous l'avons observée dans l'électrophorèse en veine liquide de 3 cas d'ictère infectieux.

Nous n'entendons pas faire ici le procès de l'électrophorèse. Nous nous permettrons seulement de remarquer que l'expression des modifications de tel ou tel constituant protéinique exige la référence précise à la technique employée.

L'électrophorèse en veine liquide ou l'électrochromatographie n'apprécient pas des éléments identiques. Les facteurs qui interviennent dans leur déterminisme ne sont pas tous les mêmes. C'est ainsi, par exemple, que les taux relatifs des fractions sériques riches en complexes lipoprotéiques apparaîtront notablement plus élevés à l'analyse électrophorétique en veine liquide, basée sur des observations réfractométriques, qu'à l'électrophorèse sur papier. En effet, dans cette dernière technique, la partie protéi-

que de tels complexes est seule révélée par les colorants des protéines. Par ailleurs, ces réactions colorées sont elles-mêmes une source d'erreurs quantitatives en raison des différences d'affinité que présentent les fractions protéiniques à l'égard du révélateur choisi.

Comme le signalent Mâcheboeuf et Rebeyrotte (118), malgré les coefficients de correction employés, les résultats restent entachés d'erreurs considérables, car ces coefficients ne sont valables que pour les sérums normaux.

Derrien et Reynaud proposent judicieusement d'exprimer les variations des constituants protéiniques en pourcentages par rapport à des moyennes tirées de l'étude de nombreux sérums normaux, et non en chiffres absolus qui ne représentent qu'une illusoire précision.

L'interprétation des électrochromatogrammes demandera certainement une longue expérience fixant empiriquement des critères pathologiques sur lesquels on pourra s'appuyer pour orienter ou confirmer un diagnostic. Jusqu'ici ces critères — qui s'ébauchent à peine pour les diagrammes établis en veine liquide — n'existent pas en électrochromatographie. Ce n'est que par commodité que l'on évoque les modifications de telle ou telle fraction nommément désignée. Il ne faut pas que cette attitude purement formelle puisse abuser les esprits. Il faut encore moins que pour interpréter les résultats auxquels aboutit l'électrophorèse sur papier, on se réfère aux critères pathologiques admis pour la méthode de Tiselius.

Celle-ci même exige des conditions expérimentales rigoureuses et constantes. Encore ne trouve-t-on pas dans les travaux des chercheurs les plus autorisés des chiffres vraiment concordants sur la composition des sérums normaux.

Néanmoins, l'exploitation de ces méthodes doit conduire et a déjà conduit, sur le plan spéculatif — les travaux de Fauvert et Hartmann en font foi — à des résultats très valables. Elle a déjà permis à ces auteurs de confirmer la notion d'insuffisance hépatique qu'ils ont été les premiers à définir clairement et à démontrer d'une façon péremptoire.

Il n'en est pas moins certain que les méthodes de relargage telles que les ont définies Roche, Derrien et coll. (151bis) fourniraient des données plus nuancées que l'électrophorèse. C'est dans cette voie que se sont engagés Vargues et Fabiani (180) dans

l'étude de l'infection expérimentale du rat blanc par **P. Berghei** avec la technique de Sandor. Mais, différence essentielle, celle-ci utilise des pH variables.

MÉCANISME DES RÉACTIONS DE HENRY

Sur le plan théorique se pose l'alternative suivante : les antigènes de Henry sont-ils de simples indicateurs d'un déséquilibre protidique, ou sont-ils dotés d'une spécificité même lâche ?

1. Les réactifs de Henry simples indicateurs d'un déséquilibre protidique.

Reprenons brièvement les arguments qui cantonnent les antigènes du sérologiste constantinois dans le rôle d'amplificateur de perturbations humorales banales.

A. - Arguments cliniques.

a) Insuffisance de sensibilité.

Les R.H. ne sont pas d'une sensibilité suffisante ; cette carence est en accord avec la signification limitée que leur imposent des modifications protidiques banales qu'elles se contentent d'exprimer et qui constituent un aspect fréquent mais non constant du tableau humoral de la malaria.

b) Absence de spécificité.

Les nombreux résultats aberrants auxquels conduisent les R.H., d'après certains auteurs, dans le kala-azar, l'hépatite épidémique, la trypanosomiasse, la syphilis, etc..., prouvent abondamment que les réactifs de Henry ne possèdent aucune spécificité, et qu'ils sont juste capables de révéler les variations protidiques que l'on retrouve dans ces diverses affections.

c) Parallélisme entre R.H. et T.H.

R.H. et T.H. se rejoignent dans leurs qualités et dans leurs défauts. Ils démontrent leur affinité et leur parenté par leur comparable comportement dans le paludisme et dans bien d'autres affections.

On ne cherche plus dans les tests hépatiques une spécificité qui n'a jamais existé que dans l'esprit de ceux qui les avaient ainsi baptisés. Pourquoi faire grief aux R.H. de ne pas définir exclusivement le paludisme ? C'est ainsi que Decourt (in 160), dont le ton n'est d'ailleurs pas péjoratif, considérant que la mélanofloculation est, comme les T.H., significative d'une irritation hépatospléno-sanguine, la recommande pour sa simplicité dans la pratique systématique de l'examen biologique de tous les malades chez qui ont peut soupçonner une atteinte hépatique.

Nouveaux tests hépatiques, les R.H., en perdant leur étiquette palustre, qu'elles supportent mal, auraient tout à gagner

Il s'agit en somme de la reprise d'un thème cher à Chorine, le parallèle entre R.H. et T.H. étant substitué à l'assimilation de la mélanofloculation aux réactions à l'eau distillée.

B. - Arguments théoriques.

Cette assimilation est d'autant plus séduisante que les expériences de Westphal, de Le Bourdelles, etc..., tendent à démontrer que :

1) Les réactifs de Henry ne se sont jamais comportés comme des antigènes au sens immunologique du mot.

2) Il paraissait peu vraisemblable, a priori, qu'ils en fussent capables, par leur constitution même qui les éloigne du pigment naturel.

3) A supposer même que soient analogues mélanine choroïdienne, hémozoïne artificielle et hémozoïne palustre, les réactifs de Henry n'en mériteraient pas pour autant la dignité antigénique, car il n'a pas été démontré que le pigment palustre fût susceptible, introduit dans un organisme animal, de susciter des anticorps spécifiques, et, dans une réaction sérologique pratiquée sur des sérums de paludéens, de provoquer une floculation spécifique.

4) La précocité de l'apparition des R.H. au cours de la maladie n'évoque pas les réactions immunologiques dont l'expression est plus tardive.

Au reste, la réaction elle-même a lieu en milieu hypotonique, alors que les phénomènes sérologiques antigènes-anticorps se déroulent en milieu isotonique.

En bref, ne possédant aucune des qualités immunologiques ou cliniques qui définissent un antigène authentique, les R.H. seraient

beaucoup mieux à leur place dans l'arsenal des techniques sérologiques qui explicitent l'altération réticulo-endothéliale présente dans un nombre varié d'affections.

Examen critique de ces arguments.

L'édifice de cette argumentation nous semble assez fragile. Examinons-la point par point :

A - Arguments cliniques.

Nous avons vu qu'on ne pouvait reprocher aux R.H. qu'un nombre relativement modeste de réponses erronées, même dans les affections où l'atteinte mésoenchymateuse était particulièrement marquée. La spécificité des techniques de Henry est honnête. Leur sensibilité est reconnue par la quasi-unanimité des auteurs.

Nous ferons remarquer en passant qu'il n'est pas prouvé que tous ceux qui ont critiqué les R.H. en aient scrupuleusement respecté le protocole opératoire minutieusement fixé par Henry. Celui-ci attache aux précautions techniques qu'il recommande une importance considérable.

Pour le principe, il faudrait être d'une partialité inéducable pour ne pas approuver un auteur d'exiger de ses adversaires qu'ils emploient sa technique authentique et sa technique seule, avant d'en critiquer les résultats. Pratiquement, l'attitude de Henry paraît tout aussi justifiable ; par exemple, les modalités précisées pour le titrage des réactifs et l'usage d'un témoin-sérum chauffé sont rationnels.

Le parallèle entre R.H. et T.H. est mal fondé. Dans une même catégorie de paludéens, les dissociations sont fréquentes. En dehors même du paludisme, ces deux groupes de réactions ne se rencontrent pas même dans leurs erreurs ; il existe des hépatites virales où les T.H. se montrent défaillants et où les R.H. sont positives à tort. Dans le P.R.C., souvent, là où les tests de labilité plasmatiques ont été négatifs, les R.H. ont donné des réponses positives et réciproquement.

Au surplus les concordances positives les plus apparemment marquées, comme celles que réalise le Hanger, ne résistent pas à l'examen, puisque, en dehors même de l'atteinte mésoenchymateuse, le céphaline-cholestérol-test peut se montrer positif (par exemple,

dans 61 % des cas de syphilis récente et dans 45 % des cas de syphilis tardive, d'après Huriez et coll., 90).

B - Arguments théoriques.

Nous ne reviendrons pas sur de nombreuses objections que Henry a réfutées avec pertinence (voir pp. 39 et 43).

Signalons en passant que l'apparition d'anticorps spécifiques a été constatée dans le paludisme par Schilling (157, 158), 7 à 18 heures seulement après l'acmé de l'accès.

D'autre part — à supposer qu'il existe — pourrait-on tirer d'un parallélisme entre T.H. et R.H. des arguments bien sérieux contre l'essence antigénique des réactifs de Henry ?

On avait prêté aux T.H., il y a quelques années, une grande spécificité d'ordre hépatique — et les interprétations de chaque test étaient souvent contradictoires et non toujours fondées (Bernard et Paget, 15) —. Puis cette conception a été abandonnée. On peut aujourd'hui se demander avec Ardry (5) si ces réactions dites non spécifiques ne posséderaient pas, assez paradoxalement d'ailleurs, une valeur spécifique méconnue. Ne serait-il pas indiqué de rapporter l'action de tel réactif de floculation plasmatique aux modifications qualitatives ou quantitatives de protéines appartenant à l'une des familles électrophorétiques : albumines, α , β , γ globulines, plutôt que d'expliquer le mécanisme de la réaction par les variations globales de l'un de ces quatre grands groupes.

Les modifications protidiques qu'objectivent T.H. et électrophorèse ne sont pas parallèles. Un diagramme électrophorétique ne traduit pas en un tableau synoptique les expressions particulières de chaque T.H. (Charbonnier, 29 ; Vicario, 183). Quelquefois à des chiffres électrophorétiques sensiblement normaux correspondent des réactions de floculation nettement positives. La qualité des globulines intervient là d'une façon plus déterminante que leur proportion dans l'intensité des réponses des T.H.

En effet, l'électrophorèse a l'inconvénient de présenter en des groupements non différenciés α , β , γ , les eu ou les pseudo-globulines. Or les pseudo sont peu intéressantes, au moins dans leur correspondance avec les T.H. car beaucoup plus stables que les euglobulines (Boselli, 22). Les euglobulines au contraire grâce à leur

labilité sont responsables du mécanisme d'une multitude de tests : Aurichio, Jong, Hanger, Kunkel, Maclagan, Wunderly, Vernes, etc.

Affirmer que la R.H. est un index de déséquilibre protidique est donc insuffisant. De quel déséquilibre protidique ? Celui que met en évidence l'électrophorèse avec l'augmentation des β et des γ globulines ? Celui ou ceux qui sont responsables des positivités des réactions de labilité plasmatique ? Plus on va, et plus on est tenté d'attribuer à chaque groupe de technique, voire à chaque technique, une correspondance différente et dans la catégorie de protéine en cause et dans la nature même de cette protéine. Il n'est pas absurde de penser que, le jour où la mosaïque des réactifs de labilité plasmatique sera suffisamment étendue, on en arrivera peut-être à révéler des fractions tellement individualisées que l'on rejoindra ainsi — quoique très grossièrement — le plan immunologique, et que ces réactifs sans prétention acquerront une sorte de caractère antigénique.

Alors on pourra difficilement refuser aux réactifs de Henry ces qualités antigéniques en faveur desquelles plaident déjà les services rendus dans le domaine clinique.

En attendant, peut-être y aurait-il lieu de réviser certains des critères qui définissent la fonction antigénique, et au nom desquels les adversaires de la théorie immunologique de Henry récusent celle-ci.

Loiseleur (113, 114) a démontré que le concept antigénique pouvait être étendu même à des molécules de masse très faible. Il n'est pas nécessaire qu'elles contiennent de l'azote. Si l'on considérait autrefois comme indispensable la fixation sur une protéine auxiliaire pour les injections à l'animal, c'est parce que l'exiguité d'une molécule entraîne une si grande diffusibilité qu'elle ne persiste pas dans la circulation pendant la durée requise pour la formation d'anticorps. Mais en employant une forme insoluble en injections multiples et massives, on peut obtenir cette formation. Les anticorps se manifestent dès que l'antigène a été éliminé, et d'autant plus vite que son poids moléculaire était petit ; ils peuvent se prolonger et persister plusieurs mois. Ils apparaissent dans le sérum fixés en général sur les globulines, dont on peut les séparer par dialyse acide.

2. Les antigènes de Henry dotés d'une spécificité lâche.

De la même manière, on pourrait réviser certaines notions concernant les supports de l'immunité humorale.

On considère que les anticorps sont de nature généralement γ globuliniques. Mais dans toutes les globulines et même dans les albumines on peut mettre des anticorps en évidence (Jayle, 92).

De même, on admettait autrefois que l'antigène entraît dans la constitution de l'anticorps. Par l'étude des relations quantitatives ainsi que par des techniques chimiques directes, cette hypothèse a été définitivement rejetée. Il vaut mieux expliquer le caractère spécifique par l'action qu'exercerait l'impureté antigénique sur la synthèse protéidique normale qui s'opère au sein des cellules sensibles du mésenchyme malade ayant fixé cette impureté (Sandor, 154).

Mais la spécificité n'est pas toujours étroitement dirigée (Wilson et Miles, 195). Grabar (63) distingue deux sortes d'anticorps :

1° Les anticorps dont la présence se manifeste au cours des infections ou des phénomènes d'anaphylaxie.

2° Les anticorps « normaux », qui existent dans l'organisme sain, tels que ceux qui sont engendrés par la flore intestinale normale. Leur nombre est très considérable. On a même constaté la présence dans le sérum d'un « anticorps naturel », capable de s'unir à des constituants tissulaires normaux.

Nous voudrions tirer de ces rapides constatations les conclusions suivantes :

1. Tous les anticorps n'étant pas spécifiques au même degré serait-il absurde d'imaginer que les réactifs de Henry représentent des antigènes doués d'une spécificité lâche ?

2. Tout phénomène immuno-humoral présentant une correspondance physico-chimique, n'est-il pas vain de reprocher aux R.H. de ne relever que de mécanismes physico-chimiques, alors qu'il apparaît clairement qu'elles ne s'expriment pratiquement que dans le paludisme ?

Les expériences tendant à démontrer qu'il n'existe pas de protéines mélano-sensibles dans le sérum d'un paludéen ne prouvent pas grand'chose. D'abord parce que ces travaux ont été conduits en fonction de critères immunologiques qui ne sont plus tous valables. Ensuite parce que d'autres expériences que nous avons rapportées, comme celles d'Aléssandro et Sicari, aboutissent à des conclusions opposées.

On ne peut même rien déduire de nos propres essais sur les éluats contre la valeur immunologique des R.H. En effet, les réactions négatives que nous avons obtenues ne proviennent que de trois sérums. En second lieu, les séroréactions de Henry comportent un certain nombre de facteurs immunologiques dont le déterminisme exige des conditions physico-chimiques qui peuvent fort bien n'être pas toutes réalisées dans les fractions protidiques soumises à l'examen sérologique. Autrement dit, comme le fait justement remarquer Henry *, les anticorps peuvent se trouver en quantité extrêmement faible, et n'agir bien que dans le milieu sérique auquel ils sont incorporés (il serait donc intéressant, remarque-t-il, de dissoudre les éluats concentrés dans un sérum négatif et de pratiquer les R.H. sur le mélange). Il est possible aussi, continue-t-il, que les qualités antigéniques ne soient pas forcément reliées à telle ou telle fraction isolée, mais qu'elles dépendent de plusieurs d'entre elles à la fois pour réagir sérologiquement avec l'antigène.

Si les réactifs de Henry étaient doués d'une spécificité lâche comme nous le supposons plus haut, ils trouveraient des précédents illustres en sérologie syphilitique.

D'ailleurs beaucoup d'analogies rapprochent syphilis et paludisme au point de vue immunologique.

Parallèle immunologique entre la syphilis et le paludisme.

A - La prémunition dans la syphilis et le paludisme.

On peut admettre qu'elle est du même ordre dans les deux affections. Depuis longtemps on estime que, dans l'une comme dans l'autre, existe un état réfractaire du sujet malade à une nouvelle réinfection.

Au moins dans les faits cliniques, sinon expérimentaux (pour lesquels Gastinel et Collart (62) se refusent à admettre dans la syphilis expérimentale la prémunition) l'immunité est liée à la persistance de l'affection.

Cette immunité de source humorale aussi bien que tissulaire (Gastinel, Aubry et coll., 7) coexiste avec la présence d'agglutinines (Lorando et Storiadès, 116).

B - Les positivités erronées en sérologie syphilitique et palustre.

a) Les B.-W. faussement positifs dans le paludisme.

* Communication personnelle.

On dispose à ce sujet d'une énorme documentation (Rosenberg 152, Kent et coll. 95, Burney et coll. 23, Rein et Kent 148, Nelson 132, etc...). Touraine (174) lui a consacré un article faisant état de statistiques fort nombreuses et fort diverses.

Le problème a été traité à fond par J. Ranque, Galais, Depieds et Moignoux (144), qui présentent une mise au point si claire et si complète qu'elle nous dispense de nous attarder longuement. Voici les points essentiels de leur exposé qui nous intéressent directement :

Les B.-W. aberrants se manifestent environ 8 jours après l'inoculation (limites extrêmes : 1 et 30 jours), et persistent de 2 à 98 jours ; ils sont à leur positivité maxima du septième au dixième jour ; le plus haut pourcentage est obtenu avec le Kahn, le plus faible avec le Hinton et la cardiolipine (avec le V.D.R.L. pour Sohier, Bénazet, Duplessis, et Bazin, 165).

Des trois espèces d'hématozoaires, le *P. vivax* fournit les plus nombreuses positivités et le *P. falciparum* les plus tenaces. Ces faits paraissent en contradiction avec les caractères cliniques et biologiques des infestations à *P. falciparum* qui sont généralement graves mais de courte durée.

D'après Zermati et Vargues (200), l'origine de ces réponses erronées doit être recherchée dans l'hypoalexie qui se produit pendant la maladie (Dulaney, 49), et qui serait due à la perturbation de la formation du complément dans l'organisme et à sa fixation in vivo. Pour Bloch (20), c'est l'abaissement du rapport albumines/globulines qui est en cause.

Les B.-W. systématiquement pratiqués dans tous les cas de malaria que nous avons observés, confirment la plupart des données que dégagent Ranque et coll. notamment sur le pourcentage des réactions aberrantes : la plupart des statistiques qu'on relève dans la littérature sont certainement très exagérées. Avec les réactions de Demanche (antigènes cholestérolé et simple), de Kolmer et du V.D.R.L., on obtient un pourcentage qui varie de 3 à 8 seulement. Ces résultats sont en accord avec ceux que produisent Sohier et coll.

b) Les R.H. faussement positives dans la syphilis.

Nous ne reviendrons pas sur les chiffres que nous avons rapportés. Remarquons simplement que les pourcentages d'erreurs que nous venons de signaler pour les B.-W. faussement posi-

tifs dans le paludisme, ne sont pas tellement éloignés de ceux que Vilkki a observés dans la pratique de la malaria-floculation chez des syphilitiques à sérologie positive.

On peut induire d'autres analogies des données que nous venons de rapporter. Il nous semble opportun d'esquisser auparavant un rapprochement entre les antigènes syphilitiques et les antigènes palustres.

C - Antigènes syphilitiques et antigènes palustres.

Dans un premier temps, écrivent Charpy et J. Ranque (30), le foie de fœtus hérédo-syphitique représentait un antigène authentique aux yeux des sérologistes de l'époque. Le jour où Levaditi, Armand-Delille, P. Marie et Foix utilisèrent de simples extraits lipoïdiques de viscères d'animal sain, on se résigna à voir dans la réaction de Wassermann l'expression d'un phénomène de floculation purement physique, indépendant de tout acte immunitaire, et se produisant dans des conditions qui se trouvaient être par hasard celles que réalisent le mélange sérum malade et extrait lipoïdique de Wassermann ou de Marie et Foix.

On s'aperçoit aujourd'hui, après les recherches d'un certain nombre d'auteurs dont celles de d'Alessandro et de Puccinelli (141) parmi les plus récentes, qu'il existe dans le tréponème trois sortes d'antigènes qui suscitent dans le sérum syphilitique trois types d'anticorps, de nature globulinique, situés électrophorétiquement entre les β globulines les plus lentes et les γ les plus rapides :

1° Un anticorps antiprotidique thermolabile, hautement spécifique.

2° Un anticorps polysaccharidique thermostable.

3° Deux anticorps antilipoïdiques (fixateur du complément et floculant). L'haptène de la fraction antigénique correspondant à cet anticorps est superposable aux extraits d'organes et à la cardiolipine.

Les anticorps antilipoïdiques, et notamment, celui qui est responsable des réactions de floculation, sont constitués par une grosse micelle globulinique complexe, mais peu modifié par rapport à la globuline normale dont elle dérive ; elle est capable de se trouver présente dans le sérum en cas d'altération du rythme protidopoïétique dans une direction anticorporale bien proche de la fonction normale de l'organisme.

Dans le paludisme, Kolmer, Kast et Lynch (98) ont employé des antigènes préparés avec des cultures de **T. pallidum** dans des réactions de fixation du complément. Ils attribuent le haut pourcentage de positivité obtenu à la présence d'un anticorps fixateur du complément dans une forte proportion de sérums palustres et même de sérums normaux.

D'après Moore (130), la réagine syphilitique existe dans le sérum normal en quantité généralement trop faible pour positiver le B.-W. Mais sous l'action de stimuli infectieux tels que le paludisme, le taux de réagine peut augmenter dans un grand nombre de cas.

Schwenkenbecher (in 144) considère les B.-W. faussement positifs dans le paludisme comme le résultat de la circulation d'auto-antigènes de désagrégation tissulaire (hémolyse intense), auto-antigènes riches en lipoïdes et susceptibles de provoquer la formation in vivo d'anticorps antilipoïdiques du type réagine.

Il n'est donc pas absurde d'imaginer que la positivité des R.H. dans le paludisme soit en relation avec l'existence d'anticorps réagissant avec des antigènes possédant une spécificité aussi lâche que les lipoïdes du tréponème. Qui songerait aujourd'hui à contester aux antigènes de la sérologie syphilitique classique, toute spécificité? Qui songe à en faire de simples révélateurs d'un déséquilibre humoral banal? Certes, les extraits d'organe utilisés dans le B.-W. amènent des floculations dans beaucoup d'affections non syphilitiques, et ces résultats doivent être reliés à la vocation immunologique instable de la réagine. Il n'en reste pas moins que la vieille réaction d'hémolyse de Wassermann demeure un fondement essentiel du diagnostic de la syphilis.

Pourquoi ne pas admettre que les réactifs de Henry sont comparables à ces antigènes syphilitiques *, et que les anticorps qu'ils floculent sont semblables sinon identiques à cette globuline de potentialité immunologique variée dont parle Puccinelli, et qui, sous l'influence des stimuli qu'évoque Moore, pourraient fort bien être induits en des quantités telles qu'elles réagiraient dans un sens ou dans l'autre.

Il se trouve que c'est dans la syphilis que se manifeste le mieux l'affinité extrait lipoïdique-réagine syphilitique, et que c'est dans

* Nous avons connaissance au moment de mettre sous presse d'un article de Le Bourdellès et Velluz (108 bis), pour qui la mélanine constituerait un antigène récepteur comparable aux lipoïdes des séroréactions de la syphilis.

la malaria que les réactifs de Henry amènent le plus grand nombre de floculations. Mais dans un certain nombre de cas, la vocation imprécise des réagines syphilitiques et palustres les pousse à des combinaisons aberrantes avec le réactif qui ne leur était pas destiné.

La réagine syphilitique et l'anticorps de la malaria semblent à Stratmann-Thomas et Dulaney, des anticorps différents : le mélange de sérum de syphilitiques impaludés et d'antigène de Wassermann n'inhibe pas la réaction de déviation du complément de Dulaney, de même que la réagine syphilitique n'est pas touchée si l'on met en présence les mêmes sérums avec les extraits tamponnés de Plasmodium.

Rien ne prouve que les anticorps responsables de la réaction de Dulaney et Morrison, soient identiques à ceux qui correspondent aux réactifs de Henry. Tout porte à croire au contraire qu'ils sont différents, Dulaney et Morrison (50) ayant pu séparer le pigment de leurs extraits sans altérer les propriétés antigéniques de ces derniers.

Il semble donc que l'on puisse considérer les réactifs de Henry comme des antigènes véritables du même ordre que les extraits d'organes utilisés dans la sérologie classique de la syphilis.

A ces antigènes palustres correspondraient des anticorps à spécificité lâche, assimilables aux globulines peu différenciées de Grabar et voisins de la grosse micelle globulinique qui constitue la réagine antilipoïdique de Puccinelli.

CONCLUSIONS

Pour 401 observations dont la grande majorité concerne des Européens atteints de paludisme et rapatriés en France, nous avons étudié principalement les réactions de Henry, de Chorine et de Le Bourdelles, ainsi que les tests de labilité plasmatique.

Nous avons complété ce travail par l'examen électrophorétique de certains sérums prélevés quelques jours après l'accès.

Après avoir passé en revue les appréciations de divers auteurs sur les techniques auxquelles nous avons eu recours et sur leur signification, nous nous sommes efforcé de juger la valeur respective et comparée de ces différents critères d'exploration biologique.

A. — Dans l'exploration biologique du paludisme.

1° Les séroréactions de Henry méritent de conserver leur crédit. A cause de leur suffisante spécificité et de leur assez grande sensibilité, elles sont intéressantes,

— sur le plan diagnostique, dans le paludisme anciennement confirmé, en l'absence d'une authentification microscopique récente.

— sur le plan thérapeutique, en permettant de contrôler les effets du traitement et de suivre l'évolution de la maladie.

Le pourcentage maximum de positivités peut être situé dans la période de deux mois qui suit le dernier accès. En dehors de cette « zone » des accès, le nombre des réponses positives diminue d'une façon appréciable.

On doit interpréter les résultats que nous apportons en se gardant d'oublier que :

— Les prélèvements ont été souvent effectués sur des malades au moment de l'accès, circonstances dans lesquelles, d'après

Henry et d'autres auteurs, l'intensité de la réponse sérologique peut se trouver considérablement atténuée.

— Les examens portent sur des sujets soustraits à l'imprégnation palustre résultant des réinoculations répétées qui sont la règle en zone d'endémie.

— Ces paludéens avaient été soumis pendant leur séjour à une prophylaxie systématique, et après leur infestation à un traitement chimiothérapique.

Les limites que nous assignons aux réactions de Henry ne sont donc ni forcément ni vraisemblablement valables en zone d'endémie palustre.

2° Les tests de labilité plasmatique ne jouissent évidemment d'aucune spécificité mais si, à eux seuls, ils ne doivent en aucune façon permettre de retenir l'étiologie palustre, ils peuvent, grâce à leur réelle sensibilité, dans les cas où l'anamnèse est déjà évocatrice et où l'on ne dispose pas des réactifs de Henry, constituer une présomption en faveur du diagnostic de malaria.

3° Les méthodes secondaires comme celles de Chorine ou de Le Bourdelles, peu fidèles et peu sensibles, ont une valeur moindre que celle des réactions précédentes.

4° L'électrophorèse en veine liquide et l'électrochromatographie sur papier, montrent des modifications protéiniques qui sont en accord avec celles que Fauvert et Hartmann ont déjà signalées.

Ces deux méthodes ne donnent pas des résultats exactement parallèles ; on peut dégager cependant des diagrammes obtenus un fléchissement des albumines et des α 1 globulines et une augmentation des γ globulines.

B. — Fondements immunologiques des réactions de Henry.

Nous estimons que c'est avec des arguments insuffisants qu'on a voulu réduire les réactions à la mélanine ou à l'hémozoïne à la simple expression de variations protidiques banales.

À la lumière des conceptions actuelles qui définissent les fonctions antigéniques et anticorporales, on est obligé d'admettre qu'il existe des antigènes et des anticorps dont la spécificité n'est pas étroite.

Il paraît séduisant d'imaginer — et les analogies que l'on peut induire des travaux récents effectués en Immunologie syphilitique ne peuvent que renforcer cette hypothèse — la pluralité des antigènes palustres et de comparer les réactifs de Henry aux extraits d'organes utilisés dans le diagnostic classique de la syphilis.

D'ailleurs, que nous importe que les produits utilisés par Henry ne puissent répondre à une définition immuno-humorale stricte telle qu'on la conçoit généralement ? Ne suffit-il pas qu'ils se conduisent avec une honnête spécificité et avec une sensibilité qui recommandent leur usage dans le domaine clinique.

Lu et Approuvé
Le Président de Thèse.
Signé : J. OLMER

Vu et Approuvé
Le Doyen
Pr le Doyen, l'Assesseur
J. DELPHAUT

Vu et Permis d'Imprimer
Aix, le 28 Avril 1954

Le Recteur
Signé : J. BLACHE

BIBLIOGRAPHIE

1. ABRAMI et SENEVET. — Wiener Klin. Woch., 1918, n° 8, p. 234, d'après (153).
2. ACHARD, BOUTARIC et DOLADILE. — Influence du chauffage du sérum sur la floculation. Acad. des Sc., 1932, d'après (85).
- 2 bis. ADANT (M.). — C. R. Soc. Biol., 1932, III, 241-2, d'après (156).
3. ALBOT (G.) et CORTEVILLE (M.). — La réaction de floculation au rouge colloïdal : test de l'hépatite mésoenchymateuse et de la cirrhose. Sem. des Hôp. de Paris. Exp. Scient. Fse de Paris (6^e), 26 juin 1952, 1975-1991.
4. AKASHI et NAKASHIMA. — Henry's melanofloculation in Malaria. J. Med. Assoc. Formose, 1934, 36, 11, 2533-44.
5. ARDRY (R.). — L'exploration clinique des protéines sériques. Ann. Biol. Clin., 1952, n° 10-12, 575-627.
6. ARMSTRONG (S.), BUDKA (M.) et MORRISON (C.). — J. Amer. Chem. Soc., 1947, 69, 416.
7. AUBRY (G.), PORTIER (A.), SENEVET (G.). — Pathogénie du paludisme. Encycl. Méd. chir. Mal. Inf., 7/1952, 8079, A 30, pp.1-6.
8. BARBIER (P.). — Nouveaux tests de l'insuffisance hépatique. Rapport du Premier Congrès international de Biologie clinique, 1948, pp. 103-110. L'Expansion Scientif. Fse rd., Paris
9. BASEGRA. — Zbl. Bakter usw., 119, Réf. 347 (1935), d'après (184).
10. BÉNAZET (F.). — Comparaison de la réaction au Rouge Colloïdal avec les tests de floculation dits « d'insuffisance hépatique ». Revue Lyonn. de Médecine (à paraître).
11. — La réaction au Rouge Colloïdal au cours de maladies hépatiques ou à retentissement hépatique (confrontation histo-biologique à propos de 151 ponctions-biopsies du foie. Revue Lyonn. de Médecine (à paraître).
12. BÉNAZET (F.), CHASTEL (J.) et SOHIER (R.). — Aspects histologiques du foie chez les Européens impaludés. Sem. des Hôp. de Paris (Archives d'Anat. Path.), 30 mai 1953, 29^e année, n° 2.
13. BÉNHAMOU (E.) et GILLE (R.). — Les conditions de floculation et de gélification des sérums pathologiques. C. R. Soc. Biol., 1935, 120, 32, 428-29.
14. BÉNHAMOU (E.) et POLONOVSKI (J.). — Electrophorèse sur papier. Applications cliniques. Ann. Biol. Clin., 1953, n° 1-2, 80-98.
15. BERNARD (A.) et PAGET (M.). — Le synchrome biochimique en pathologie hépatique. Ses limites et perspectives. Acta Gastro-entérol. Belg., 1950, I, 25-27.
16. BERTHOLD et HANNES. — Plasmastudien Beiträge zur Klinik der Infektionskrankheiten und zur Immunitätsforschung, 1914, d'après (85).

17. BERTRAND-FONTAINE (T.), FAUVERT (R.), SCHNEIDER (J.) et HART-MANN (L.). — L'atteinte hépatique au cours du paludisme. Soc. Méd. Hôp. Paris, 14 octobre 1949, 25, 1949, 1098-1109.
18. BLANC (F.) et SIGUIER (F.). — Guide clinique et thérapeutique à l'usage des médecins des troupes françaises en Extrême-Orient. 2^e édition, S.I.L., éd., 1948.
19. BLASI (de). — Ann. de Méd., nov. 1908, n° 14, et Malaria, 1910, p. 110, d'après (153).
20. BLOCH (M.). — Falsas reacciones serologicas de la sífilis. Arch. Hosp. Rosales, 1944, **35**, 2-6.
21. BOGEN (E.). — Buffer-precipitation-test for malaria. U.S. Nav. Med. Bull., juill. 1945, **45**, 1, 45-53.
22. BOSELLI (A.). — L'analyse néphélométrique des fractions euglobuliniques α , β , γ des sérums dans le diagnostic fonctionnel des affections hépatiques. Bull. Assoc. Etudes physio-pathol. du foie et de la Nutrition, 1950, n° 13, 86-106.
23. BURNEY (L. E.), MAYS (J. R. S.) and ISKRANT (A. P.). — Results of serologic tests for syphilis in non-syphilitic persons inoculated with malaria. Amer. J. Publ. Health, 1942, **32**, 39-47.
24. CARNOT (P.). — Sur le mécanisme de la disposition des schizontes dans le sang périphérique au cours des accès de paludisme. C. R. Soc. Biol., 1917, **80**, 575, d'après (121).
25. CARTER and MACLAGAN (N. F.). — Some observations of liver function tests in diseases not primarily hepatic. Brit. Med. J., 1946, 80.
26. CASTELLANOS (M. E.). — Serofloculation de Henry para el diagnostica del paludismo. Thèse, Mexico, 1952, d'après (85).
27. CAZAL et ELLIOTT. — Groupes sanguins du système Rh., p. 22, d'après (85).
28. CELLI (P.). — Sull'immunità dall' infezione malarica. Atti. della Soc. per gli studii della malarica, 1901, d'après (121).
29. CHARBONNIER (A.), BAESENS (J.) et CAROLI (J.). — L'apport de l'électrophorèse des protides sériques dans le diagnostic différentiel des ictères. Ann. Biol. Clin., 1953, n° 5-6, 303-312.
30. CHARPY (J.) et RANQUE (J.). — De la réaction de Wassermann au test de Nelson et Mayer. 111^e colloque de la Filiale Marseillaise de la Soc. Fse de Dermato. et Syphiligraphie : le T.P.I. de Nelson-Mayer et les nouveaux aspects immunologiques de la syphilis. Masson, éd., 1953, pp. 7-25.
31. CHASTEL (J.). — Recherches histologiques sur l'étiologie et la pathologie du « gros foie tropical ». Thèse Méd., Lyon, 1952.
32. CHORINE (V.). — Les réactions sérologiques dues aux euglobulines. Ann. Inst. Past., 1937, **58**, 1, 78-124.
33. — La réaction de Henry. Arch. Inst. prophyl., 1938, **10**, 3, 217.
34. — La réaction de Henry n'est due qu'à des modifications quantitatives dans le sérum. Bull. Soc. Path. Exot., 1938, **31**, 9, 838.
35. — Spécificité de quelques réactions sérologiques commandées par les euglobulines. C.R. Soc. Biol., 1934, **116**, 1252-3.

36. CHORINE (V.), PRUDHOMME (R.) et KOECHLIN (D.). — Flocculation du sérum dans l'eau distillée et réaction de Henry. C.R. Soc. Biol., 1934, **116**, 1255-7.
37. CORRADETTI. — Le reazione di Henry nell'infezione malarica. Riv. di Malariol., 1932, Ann. 11, 3, 282-300, d'après (121).
38. COSTADONI. — Gi. Batter, 1935, **15**, 1924, d'après (184).
39. D'ALESSANDRO (G.) et SICARI (S.). — Sull' essenza della reazione di Henry. Riv. di Malariol., 1941, **20**, 1, 17.
40. DAO VAN TY. — Contribution à l'étude du foie dans le paludisme. Thèse Méd., Paris, 1950.
41. DARBON (A.). — Nouvelle réaction à l'hémozoïne artificielle de Henry. Congr. Biol. Clin. Exp. Scient., éd., Lyon, 1950.
42. DARBON (A.), SOHIER (R.) et RAYMOND (M.). — Nouvelle réaction sérologique du paludisme à l'hémozoïne artificielle de Henry (résultats obtenus). Ann. Biol. Clin., 1950, **8**, 4, 466-470.
43. DECOURT (P.). — Récidive de paludisme à neuf ans de distance. Transfusion de sang, transfusion de paludisme au donneur. Danger de la transfusion de sang aux colonies. Rev. Méd. et Hyg. Trop., 1931, **18**, n° 1, janv.-fév., d'après (105).
44. DELAVILLE (M.). — Le métabolisme des lipides. Docum. biologiste praticien, 1951, **4**, 3, 247-274.
45. DERRIEN (Y.). — Recherches sur les constituants protéiques du sérum. Etablissement et interprétation des courbes de relargage des protéines sériques par les sels neutres à pH et température constants. C.R. Soc. Biol., 1944, **26**, 1091-1106.
46. DIGOUTTE (J.-P.). — Critères diagnostiques de la réalité et de l'évolution du paludisme chez les Européens rapatriés des zones d'endémie palustre. Thèse Méd., Lyon, 1953.
47. DOLE (V. P.) and EMERSON Jr. — Electrophoretic changes in the plasma protein patterns of patient with relapsing malaria. J. Clin. Invest., 1945, **24**, 644-7.
48. DUCCI (H.). — The colloidal red test for the study of hepatic dysfunction. J. Lab. and Clin. Med., 1947, **32**, 1273-1274.
49. DULANEY (A. D.). — Le taux du complément du sérum humain avec une étude particulière au cours du paludisme. J. Clin. Invest., 1948, **27**, 3, 320-6.
50. DULANEY (A. D.) and MORRISON (D. B.). — On the preparation and properties of antigens from Plasmodium knowlesi. Am. J. Trop. Med., 1944, **24**, 323-6.
51. DURRUM (E. L.). — J. Amer. Chem. Soc., 1950, **72**, 2943.
52. EATON (M. B.) and COGGESHALL (L. T.). — Complement fixation in human malaria with an antigen prepared from the Markey parasite Plasmodium knowlesi. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1940, **44**, 347-9.
53. EBSTEIN. — Zentralblatt für Bakt., 1919, d'après (85).
54. FAUVERT (R.). — Données récentes sur les modifications des protides sanguins dans les maladies de foie. Acq. médicales récentes, Flammarion, éd., 1949.

55. FAUVERT (R.). — L'utilisation en clinique des tests d'exploration fonctionnelle du foie. *Conc. Méd.*, 1952, **74**, 26, 1409-27.
56. FAUVERT (R.). — Réactions de labilité plasmatique dans les affections du foie. *Acta Gastro-enterol. Belg.*, 1950, fasc. 2, 67-76.
57. FAUVERT (R.) et HARTMANN (L.). — Technique de la réaction de Mac Lagan. Extrait du *Bull. Assoc. Etudes Physiopathol. du foie*, 1950, n° 11.
58. — Etude biologique et clinique de la réaction de Mac Lagan. *Bull. Assoc. Etudes Physiopathol. du foie*, 1950, n° 13, 155-228.
59. FIESSINGER (N.), OLIVIER (H. R.), HERBAIN (M.). — Les diagnostics biologiques et fonctionnels. Maloine, éd., Paris, 1949.
60. FONTANGES (R.). — Valeur diagnostique de la ponction-biopsie du foie et des réactions sérologiques au cours des hépatites à virus. *Thèse Méd.*, Lyon, 1953.
61. FUHRMANN (G.) et HARTEN (R.). — Der Serumeiweisstoff und die Serumlabilitätsreaktionen beider Malaria tertiana. *Ztschr. f. Tropenmediz. u. Parasit.* Stuttgart, 1951, **2**, 4, 457-71.
62. GASTINEL (P.) et COLLART (P.). — Problèmes de l'immunité dans la syphilis expérimentale. Ses rapports avec le test d'immobilisation des tréponèmes. III^e colloque de la Filiale Marseillaise de la Soc. Franç. de Dermato. et Syphiligraphie. Masson, éd., 1953, 25-63.
63. GRABAR (P.). — Les globulines du sérum sanguin. *Médecine et Biologie*. Masson, éd., 1947, n° 3 et VII^e Congrès de Chimie Biol., Liège, 3-6 oct. 1946.
64. GREIG (E. D. W.), VAN ROOYEN (C. E.) et HENDRY (E. B.). — La réaction sérologique de mélanofloculation dans la malaria. *J. of Trop. Med.*, 2 juill. 1934.
65. HARTMANN (L.). — Les réactions de floculation en pathologie hépatique. *Presse Méd.*, 1951, **59**, 46, 981-2.
66. HARTMANN (L.) et LOVERDO (A.). — Electrophorèse des liquides organiques, 1952, **74**, 26, 2389-99.
67. HARTMANN (L.) et FAUVERT (R.). — Modifications des protides sanguins au cours des maladies de foie. *Conc. Méd.*, 1952, **74**, 26, 2399-2406.
68. HENOCQUE. — Spectroscopie biologique, t. III, p. 93, d'après (85).
69. HENRY (A.-F.-X.). — Etude sérologique de l'infection palustre. II^e Congrès pour l'avancement des Sciences. Constantine, *Bull. Inst. Past.*, 1927, p. 702.
70. — *Paris Médical*, 1928, p. 587, d'après (153).
71. — Nouvelles techniques de ferrofloculation pour l'étude sérologique du paludisme. *C. R. Soc. Biol. Lyon*, 1929, 671-674.
72. — Technique, indications et résultats de la mélanoréaction. Guide pratique appliqué au diagnostic du paludisme. G. Villain, *Suppl. Biol. Méd.*, 1935.
73. — Réactifs pour malariefloculation. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1936, n° 10, d'après (85).
74. — *Soc. de Pathol. Exot.*, 1936, n° 70, d'après (85).

75. HENRY (A.-F.-X.). — Technique photométrique de la séroflocculation palustre avec la mélanine ferrique stabilisée. Extrait de la Rev. Gén. Méd. et Chir. de l'Afr. du Nord et Col. Fses, n° 452, juillet 1941 et Arch. Inst. Prophyl., juill.-sept. 1937.
76. — La séroflocculation palustre. Notions théoriques et pratiques. Revue d'Hygiène, 1939-40, **61**, 10, 673-697.
77. — Etudes sérologiques sur le paludisme. Rev. Tunis. des Soc. Méd., mai 1927, p. 153.
78. — Séroflocculation palustre à l'hémozoïne artificielle. C. R. Soc. Biol., 1947, **141**, 991.
79. — Hémozoïne artificielle et paludoflocculation. Bull. Soc. Pathol. exotique, 1949, **42**, 5-6, 267.
80. — Kala-azar et paludoflocculation. Riv. di Malariol., 1951, **30**, 4, 195-199.
81. — Paludisme chronique. Son traitement. Riv. di Malariol., 1951, **30**, 3, 137-151.
82. — L'influence palustre dans les états chroniques. Etude générale et déductions pratiques. Rapport au Congr. Int. de Cannes. Rev. gén. Méd. et Chir. de l'Union Fse, n° 633, 1^{er} juill. 1953.
83. — Kala-azar et paludoflocculation. Rev. du Palu. et de Méd. Trop., n° 103, 15 janv. 1953.
84. — Hémozoïne mélanique et séroflocculation palustre. Constantine Méd., Bull. Soc. Sciences Méd., mars 1953, 4^e ann., n° 1.
85. — Sur la théorie et les principes du sérodiagnostic du paludisme. Rapport au Congr. Int. du paludisme d'Istanbul, août 1953 (à paraître).
86. — Hémozoïne mélanique et séroflocculation palustre. Rapport au Congr. Int. de Microb. de Rome, sept. 1953 (à paraître).
87. HIRSCH et LIEBERS. — Immunochemische Studien u. Mitteilung in Fermentforschung. Bd VI, Heft 2, d'après (85).
88. HORMANN (H.). — Ein Methode zum serologischen Nachweis der Malaria. Ztschr. f. Immunitäts. u. Exper. Therap., 1949, **106**, 2, 135-141.
89. HOROWITZ et WLASSOWA. — Bull. Soc. Phys. Méd. Orenbourg (U.R.S.S.), 5 nov. 1923, d'après (153) et (184).
90. HURIEZ (C.), DESURMONT (M.) et ARGUEMBOURG (P.). — La réaction de Hanger dans la syphilis et son traitement. Bull. Soc. Franç. Dermato. et Syphiligraphie, n° 3, mai-juin 1948, 193.
91. JANSEN (L. W.). — Electrophoretic studies on serum proteins. North Holland Pub., Amsterdam, 1951, d'après (5).
92. JAYLE (M.-F.). — Formule glycoprotéidique du plasma sanguin. Rev. Fse de Sérol. et Chimiothérapie, n° 1, 1^{er} juillet 1947, 4-11.
93. JUSTIN-BESANÇON (L.), FAUVERT (R.), KLOTZ (H. P.), BARBIER (P.) et HARTMANN (L.). — La réaction au thymol et son intérêt dans l'étude de l'insuffisance hépatique. Bull. et Mém. Soc. Hôp. Paris, 1947, n° 17-18, 353-55.
94. KAPPUS. — Arch. Schiff's. u. Tropenhyg., 1932, **36**, 576, d'après (184).

95. KENT (J. F.), CULWELL (W. B.), COATNEY (G. R.) and COOPER (W. C.). — False positive tests for syphilis: a further study of their incidence in sporozoite induced vivax Malaria. *J. Lab. and Clin. med.*, 1948, **33**, 747-52.
96. KLEEBERG et BIRNBAUM. — Studies on liver damage in acute Malaria. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 1948, **41**, 4, 555-6.
97. KLINGSBURY. — *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 1926, **30**, 36, d'après (153) et (181).
98. KOLMER (J. A.), KAST (C. C.) and LYNCH (E. R.). — Studies on the rôle of the *Spirochaeta pallida* in Wassermann reaction. II. Relation of spirochetal antibodies to Wassermann reagin. *Amer. J. Syph. Gonorrhea and Venereal Diseases*, 1941, **25**, 412-34.
99. KRITSCHESKI (I. L.) u. DEMIDOVA. — Das Phänomen der Melanoflokulation bei der experimentalen Vogelmalária. *Ztschr. f. Immunitätsf. u. Exper. Therap.*, 1953, **80**, 135.
100. KRITSCHESKI (I. L.) u. RUBINSTEIN (P. L.). — Ueber die Antigennatur des Melanins. *Ztschr. f. Immunitätsf. u. Exper. Therap.*, 1935, **84**, 397-404.
101. LACOUR (P.-R.). — *Recherches sur la malariefloculation de Henry*. Doin, éd., Paris, 1934.
102. LANDON (A.). — *Les réactions de floculation dans le paludisme*. Thèse Méd., Lyon, 1949.
103. LEBON (J.) et FABREGOULE (M.). — Le syndrome humoral du paludisme aigu. *Soc. Hôp. Paris*, 1949, **78**, 3, 229.
104. LE BOURDELLES (B.). — La sérologie du paludisme. Ses techniques. Ses applications. Ses résultats. *Rev. du S.S.M.*, 1939, p. 267.
105. — Diagnostic du paludisme. *Traité de Médecine*, 1948, t. II p. 436, Masson, éd.
106. LE BOURDELLES (B.) et FRIBOURG-BLANC (A.). — Malariefloculation et malarithérapie. *Soc. Méd. Hôp. Paris*, 7 juillet 1953.
107. LE BOURDELLES (B.) et LIEGEOIS (R.). — La réaction de Henry. *Soc. Méd. Hôp. Lyon*, 24 avril 1928, et *C. R. du II^e Congr. du paludisme*, Alger, 1930.
108. LE BOURDELLES (B.) et MAUVAIS (R.). — Sur la mesure de la floculation des sérums dans l'eau distillée. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **127**, 767-8.
- 108 bis. LE BOURDELLES (B.) et VELLUZ (L.). — Malariefloculation de Henry et protéines du sérum palustre. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, 1088, 402-3, d'après (85) et (102).
109. LIPPELT. — *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.*, 1938, **42**, 522, d'après (184).
110. LIPPINCOT (S. N.), ELLERBROOK (L. D.), HESSELBROCK (W. B.), GORDON (H. H.), GOTTLIEB (L.) and MARBLE (A.). — Liver function tests in chronic relapsing vivax Malaria. *J. Clin. Invest.*, 1945, **24**, 5, 612-22.
111. LIVIERATO et SALATA. — *Acta med. Scand.*, 1935, **87**, 189, d'après (184).
112. LIVIERATO, VAGLIANO et KOKARAKI. — Sur deux nouveaux antigènes pour la séroréaction du paludisme, d'après la méthode de Henry. *C. R. Acad. Sc.*, 1938, **206**, 13, 1062-3.

113. LOISELEUR (J.). — Comparaison de l'antigénicité des molécules protéidiques, organiques et minérales. Colloque d'Immunochimie. Journ. Méd. Bordeaux et S.-O., 1953, **130**, 2, 264-90.
114. — Formation et propriétés de la fonction anticorps correspondant aux molécules organiques de faible poids moléculaire. Ann. Inst. Past., 1950, **78**, 1-2.
115. LOMONICHO et PANICHI, cités in (121).
116. LORANDO and SOTIRIADES. — Immunity in Malaria. Therapeutic results obtained from subcutaneous injection of immunized blood. J. Trop. Med. a. Hyg., 1936, **39**, 17, 197-204.
117. LOURTEAU. — Contribution à l'étude de la séroflocculation de Henry. Thèse Toulouse, 1935, d'après (85).
118. MACHEBOEUF (M.) et REBEYROTTE (P.). — Quelques avantages de la microélectrophorèse des protéines. Rev. Hématol., 1952, **7**, 3, 400-6.
119. MAIZELS (M.). — Empirical tests of liver function. The Lancet, 1946, **2**, 401, 451-54, d'après (60).
120. MAKARI (J. G.). — The cephalin cholesterol flocculation test in chronic malaria and its relation to endemicity. J. Trop. Med. a. Hyg., 1946, **49**, 5, 92, et Brit. Med. J., 1946, **23**, 272-3.
121. MANNONI (J.). — Diverses théories sur le mécanisme de la réaction de Henry. Thèse Méd., Paris, 1936.
122. MARCHOUX (E.) et CHORINE (V.). — Les paludéens devant la réaction de Henry. Presse Méd., **101**, 18 déc. 1935.
123. MASSIAS (C.) et HAO (N.-D.). — La cirrhose atrophique du foie paludéenne. Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 1948, 24-25, 826-30.
124. MATVEEV. — Bull. Inst. Pasteur, 1937, **35**, 490, d'après (184).
125. MAYER (M. M.) and HEIDELBERGER (M.). — Studies in human Malaria-V. Complement fixation reaction. J. Immunol. Virus Res. and Exp. Chemotherapie, 1946, **54**, 89-102.
126. MECHALL, RODIER et MALLET. — Bull. Inst. Hyg. Maroc, 1948, **8**, 121-3.
127. MEERSSEMAN (F.) et LACOUR (P. R.). — Recherches sur la réaction de la malarieflocculation de Henry. C. R. Soc. Biol., 1933, **112**, 908.
128. MEERSSEMAN (F.) et LAFUMA. — Soc. de Biol., d'après (85).
129. MILLIAU (M.). — Foie et paludisme. Encycl. Médico-Chir. Foie, septembre 1949, 7026.
130. MOORE (J. E.), cité in (144).
131. NEEFE. — Gastro-enterology, 1946, **7**, 1, d'après (8).
132. NELSON (M. G.). — Serological tests for syphilis in treated P.F. malaria. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. a. Hyg., 1947, **41**, 127-32.
133. OU (T.). — Ueber die Takata Reaktion bei Malaria. J. Med. Assoc. Formose, 1940, **39**, 11.

134. PAGET (M.). — Les réactions de floculation et la détermination du pouvoir enzymatique du sérum dans l'exploration fonctionnelle du foie. Docum. Biologiste Praticien, 1950, **5**, 159, 201.
135. PEVNY. — Wiener Klin. Woch., 1918, n° 8, p. 234, d'après (153).
136. PICADO. — C. R. Soc. Biol., 1929, **100**, p. 479, d'après (153).
137. PIKOUL (J. W.) et OSIPOVA (N. P.). — Essai de remplacement de l'antigène mélanique de Henry par un indicateur chimique. Med. Parasit. and Paras. Diseases, Moscou, 1937, **6**, 4.
138. PLAUCHU, BENAZET (F.), SOHIER (R.), LOISY (C.) et CHASTEL (J.). — Les données de la ponction-biopsie dans les hépatomégalies de l'Européen ayant séjourné en région tropicale ou subtropicale. Lyon Méd., n° 3, 20-1-52.
139. PROSKE (H. O.) and WATSON (R. B.). — The protein Tyrosin reaction. A biochemical diagnosis for Malaria. Publ. Health Ref. 1939, **54**, 5, 158.
140. PRUDHOMME. — Floculation des sérums en eau distillée et réaction de Henry. Soc. Biol., 7 déc. 1944, p. 944, d'après (85).
141. PUCCINELLI (V.). — Considérations sur la valeur clinique de la recherche de différents anticorps dans le sang du syphilitique. III^e Colloque de la Filiale Marseillaise de la Soc. Fse Dermato. et Syphiligraphie. Masson, éd., 1953, pp. 131-149.
142. RAMON. — Essai sur l'immunité antitoxique. Le lieu d'origine de l'antitoxine. Presse Méd., 10 sept. 1933, d'après (85).
143. RANQUE (M.). — Valeur sémiologique du thymol-test de Mac Lagan. Thèse Méd., Marseille, 1950.
144. RANQUE (J.), GALLAIS (P.), DEPIEDS (R.) et MOIGNOUX. — Intérêt du test de Nelson en milieu tropical. III^e Colloque de la Filiale Marseillaise de la Soc. Fse Dermato. et Syphiligraphie. Masson, éd., 1953, 171-220.
145. RAVINA et MAIGNAN. — Presse Méd., 1938, 6, d'après (184).
146. RAYNAL (J.). — La réaction de Henry au Tonkin. Résultats de 853 mélanofloculations. Bull. Soc. Pathol. Exot., 1936, **29**, 75.
147. REIN (C. R.), BUKANTZ (S. C.), KENT (J. F.), COOPER (W. C.), RUHE (D. S.) et COATNEY (G. R.). — Etude du paludisme humain. XIX. L'évolution de la réaction de déviation du complément dans le paludisme à Plasmodium vivax, dû à un sporozoïte de la souche St-Elizabeth. Amer. J. Hyg., 1949, **49**, 3, 174-84.
148. REIN (C. R.) and KENT (J. F.). — False positive tests for syphilis. A study of their incidence in sporozoïte induced vivax Malaria. J. Amer. Med. Assoc., 1947, **133**, 1001-3.
149. RIEUX (J.). — Existe-t-il un paludisme chronique chez les paludéens définitivement rapatriés en France ? Bull. Soc. Méd. Hôp. Paris, 1922, **37**, n° 3, 2 février.
150. ROCCHI (F.). — Ricerche sul pigmento malarico con speciale riguardo alle reazioni di Henry. Arch. Ital. Anat. Istol. Pathol., 1930, n° 4, d'après (85).
151. — Valore antigene del pigmento malarico. Riv. di Malariol., 1939, d'après (85).

- 151bis. ROCHE (J.), DORIER (M.) et SAMUEL (J.). — La précipitation des protéines du sérum par le sulfate d'ammonium. L'homme normal. C. R. Soc. Biol., 1936, **121**, 1019.
152. ROSENBERG (A.). — Effect of Malaria on serologic tests for syphilis. Bull. U.S. Army Med. Dept., 1945, **84**, 74-80.
153. RUBINSTEIN (M.). — Traité pratique de sérologie et de sérodiagnostic. Maloine, éd., Paris, 1932.
154. SANDOR (G.). — Etude des anticorps par le fractionnement des protides. Rev. Hématol., 1946, **1**, 2, 153-165.
155. — Quelques considérations concernant la naissance des anticorps. Colloque d'Immunochimie. Journ. Méd. Bordeaux et S.-O., 1953, **130**, 2, 300-3.
156. SANNIE (C.). — Les mélanines. Exp. Ann. Bioch. Méd., 1945, **5**, 128-151.
157. SCHILLING (G.). — Malarial immunity and its practical significance. Arch. f. Schiffs. u. Trop. Hyg., 1937, **41**, 6, 443-6.
158. — Anticorps dans le sang des Paludéens. Ztschr. f. Immunitätsf. u. Exp. Therap., 1943, **104**, 2, 5, 212-19.
159. SCHNEIDER (J.). — L'atteinte hépatique au cours du paludisme. Bull. Méd., 1950, 15 fév., n° 4.
160. SCHNEIDER (J.) et HARTMANN (L.). — Explorations fonctionnelles hépatiques au cours du paludisme. Etude systématique au cours du paludisme d'inoculation. Bull. Soc. Pathol. Exot., 1949, **42**, 5, 6, 259-263.
161. — Atteinte hépatique dans le paludisme. Rapport au Congr. Int. du Paludisme, août 1953 (à paraître).
162. SCHNEIDER (L. A.) and SHALLENBERGER (P. L.). — A study of hepatic function in acquired malaria. Amer. J. Med. Sc., 1947, **214**, 1, 80-3.
163. SICAULT (G.) et MESSERLIN (A.). — L'évolution de la réticulo-endothéliose palustre. Bull. Soc. Pathol. Exot., 1940, **33**, 272.
164. SINTON (J. A.) and GHOSH (B. N.). — Studies of malarial pigment: haemozoin. Records of the Malaria survey of India, 1934, **4**, 205-221.
- 164 bis. SINTON and HUGHES. — The functional capacity of the liver in malaria with special references to the levulose-tolerance-test. Ind. J. Med. Res., 1924, **12**, 409.
165. SOHIER (R.), BÉNAZET (F.), DUPLESSIS (M.) et BAZIN (R.). — Etude de la réaction de floculation du V.D.L.R. Ann. Biol. Clin., 1952, 5-6, 311-316.
166. SOHIER (R.), GREGOIRE, VIOLETTE et POIRIER. — La réaction au thymol de Mac Lagan au cours du paludisme et de l'amibiase. Bull. Soc. Pathol. exot., avril 1948.
167. STRATMAN-THOMAS (W. K.) and DULANEY (A. D.). — Immunologic studies in malaria with references to the diagnosis of Malaria. Amer. J. Trop. Med., 1940, **20**, 717-25.

168. SUTLIFF (W. D.), DULANEY (A. D.) et DAVIS (W. M.). — Diagnostic du paludisme par la réaction de fixation du complément avec l'antigène préparé à partir de *P. knowlesi*. *J. Nat. Malaria Soc.*, 1950, **9**, 1, 75-9.
169. SWYNGHEDAUW, LE BOURDELLES et MASSE. — Le diagramme électrophorétique du sérum des paludéens. *C. R. Soc. Biol. Réunion de Lille*, 18-11-46, 1947, 141, 290-91.
170. TALIAFERRO, in (184).
171. TELCHAROV (L.) et TODOROWA (M.). — Le foie des paludéens (étudié sur 45 cas au moyen de ponctions-biopsies). *Sem. Hôp. Paris*, 1950, **26**, 43, 2072-5.
172. THILLIARD. — Etude du mécanisme de la Malariafloculation de Henry. Thèse Méd., Lyon, 1936, d'après (85).
173. TORREY (J. C.) et KAHN (M. C.). — Tests de précipitation dans le paludisme à *Plasmodium lophuræ*. *J. Immunol. U.S.A.*, 1949, **62**, 1, 41-8.
174. TOURAINE (A.). — Les fausses réactions de la syphilis. *Rev. Sérol. et Chimioth.*, nos 3-4, 4^e trim^e 1948.
175. TRENSZ (F.). — Sur les propriétés d'antigène de l'hémozoïne. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1935, **28**, 558.
176. — De l'influence des ions salins sur la floculation et la surfloculation du sérum des paludéens. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **119**, 24, 966-8.
177. — Sur le rôle des euglobulines dans le mécanisme de la mélanofloculation de Henry. *Arch. Inst. Past. Algérie*, décembre 1935, d'après (85).
178. — La valeur pratique de la mélanofloculation de Henry. *Arch. Inst. Past. Algérie*, 1936, **14**, 3, 353-90.
179. — Courbes sérologiques chez les paludéens en traitement. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1936, **29**, 749.
180. VARGUES (R.) et FABIANI (G.). — Etude sérologique de l'infection expérimentale du rat blanc par *P. Berghei*. La fiche réticulo-endothéliale de Sandor et l'euglobuline I. *C. R. Soc. Biol.*, 1952, **146**, 15-16, 61-4.
181. VAUCEL (M.). — Paludisme. *Coll. Méd. Chir. Médecine Tropicale*. Flammarion, Paris, 1952, 726.
182. VIALATTE et REMONTET. — Prémunition et réaction de floculation de Henry. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1930.
183. VICARIO (A.). — A propos de 48 électrophorèses. Thèse Méd., Paris, 1950.
184. VILKKI (J.). — Ueber die Henry Serpreaktion und ihre klinische Anwendung. *Acta Med. Scand. Suppl. CLXIII*, 1945, pp. 1-110.
185. VILLAIN (G.) et DUPOUX (R.). — Contribution à l'étude sérologique du paludisme. Utilisation d'une mélanine artificielle, la M. A. floculation. *Arch. Inst. Past. Tunis*, 1936, **25**, 3-4, 469-551.

186. ROCCHI (F.). — Contribution à l'étude sérologique du paludisme. Technique et résultats de la mélanofloculation. Bull. Soc. Pathol. Exot., 1936, **29**, 121-132.
 187. VOLAVSEK (W.). — Ueber die Henrysche Malaria Reaktion und ihre Beziehung zum Komplementtiter und zur Takata-reaction. Wien. Klin. Woch., 1937, **50**, 45, 1551-52.
 188. WAHL (P. N.) and ARORA (M. M.). — Liver function studies in Malaria. Indian J. Med., 1952, **6**, 3, 165-176, et 4, 235-45.
 190. WALTER (H.). — La pratique de l'exploration fonctionnelle du foie. Masson, éd., Paris, 1953.
 191. WARTMAN (W. B.) and SHLIMOVITZ (N.). — The blood proteins tyrosin-reaction in malaria and certain other diseases. Amer. J. Med. Sc., 1946, **212**, 1, 70-7.
 192. WEIL (P.-E.). — L'hématologie clinique et laboratoire. Masson, éd., Paris, 1946.
 193. WESTPHAL (A.). — A consideration of the Henry reaction and new experimental investigations. Ztschr. f. Tropenmed. u. Parasit. Stuttgart, 1950, **2**, 1, 68-75.
 194. WILLIAMS (R. G.). — The functions of the liver as affected by malaria induced in general paralytics. Lancet, 1927, 1071.
 195. WILSON (G. S.) and MILES (A. A.). — Topley and Wilson's principles of Bacteriology and Immunity. Vol. I. Edw. Arnolds a. Co, Ed., London, 1948.
 196. WOZONIG (H.). — Eiweisskörper und Kolloïdreaktionen im Liquor bei natürlicher Malaria. Ztschr. f. Immunitätsf. u. Exper. Therap., 1949, **106**, 4, 329-38.
 197. WUHRMANN (F.) et WUNDERLY (C.). — J. Labor. Clin. Med. (Am.), 1949, **34**, 1162, d'après (198).
 198. WUNDERLY (C.), KARRER (J.), HUGENTOBLE et WUHRMANN (F.). — Etude des modifications des protéines sériques dans 174 cas présentant une hyperglobulinémie α et de leur signification. Rev. Hématol., 1951, **6**, 1, 3-25.
 199. WUNDERLY (C.) et REYNAUD (J.). — Méthode d'analyse électrophorétique sur papier chromatographique, et son application à l'étude de la bilirubinémie. Rev. Hématol., 1952, **7**, 3, 347-61.
 200. ZERMATI (M.) et VARGUES (R.). — Concentration alexique du sang au cours du paludisme aigu. C. R. Soc. Biol., 1947, **141**, 406-7.
-

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos	7
INTRODUCTION	9
Objet du travail	11
Rappel physioclinique	12
Plan de travail	14
L'EXPLORATION BIOLOGIQUE DANS LE PALUDISME	19
Réactions sérologiques	21
Réactions palustres	21
Techniques diverses	21
Réactions de fixation du complément	22
Réactions de floculation	27
Séroréactions de Henry	28
Réactions secondaires	62
Autres méthodes d'exploration biologique	73
Tests de labilité plasmatique	77
Méthodes chimiques	80
Modifications hématologiques	84
Modifications histologiques	84
Comparaison des divers tests de l'exploration biologique entre eux	87
Les réactions palustres entre elles	87
Les réactions palustres et les autres moyens d'exploration	89
Les autres moyens d'exploration entre eux	91

TRAVAUX PERSONNELS	93
Conditions du travail	95
Exposé des résultats	101
Réactions sérologiques	101
Etude séparée de chaque groupe de réaction	101
Etude comparée	113
Résultats d'électrophorèse	121
Discussion	127
Valeur des différents moyens d'exploration	127
Mécanisme des réactions de Henry	133
CONCLUSIONS	145
BIBLIOGRAPHIE	148
